

Vergleichende Untersuchungen
von Verdünnern zur Spermakonservierung
bei Bulle, Schafbock und Ziegenbock
unter besonderer Berücksichtigung
von pH-Wert und Osmolalität

Christof Mytzka

Disbui. München

1988



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555421_0024

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Lehrstuhl: Prof. Dr. W. Leidl

Vergleichende Untersuchungen von Verdünnern zur Sperma-
konservierung bei Bulle, Schafbock und Ziegenbock unter
besonderer Berücksichtigung von pH-Wert und Osmolalität

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Christof Mytzka
aus
Eggenfelden

München
1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. W. Leidl

Korreferent: Prof. Dr. G. Brem

Tag der Promotion: 26. Februar 1988

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATUR	2
2.1. Aufgaben und allgemeine Zusammensetzung von Spermaverdünnern	2
2.2. Bedeutung des pH-Wertes bei der Sperma- konservierung	4
2.2.1. Allgemeine Bemerkungen	4
2.2.2. Bedeutung des pH-Wertes von Spermaverdünnern bei verschiedenen Tierarten	5
2.2.2.1. Bulle	6
2.2.2.2. Schafbock	7
2.2.2.3. Ziegenbock	8
2.2.2.4. Eber	9
2.2.2.5. Hengst	9
2.2.2.6. Rüde	9
2.2.2.7. Kater	10
2.3. Bedeutung der Osmolalität bei der Sperma- konservierung	11
2.3.1. Allgemeine Bemerkungen	11
2.3.2. Bedeutung der Osmolalität von Sperma- verdünnern bei verschiedenen Spezies	13
2.3.2.1. Bulle	13
2.3.2.2. Schafbock	14
2.3.2.3. Ziegenbock	15
2.3.2.4. Eber	15
2.3.2.5. Hengst	15
2.3.2.6. Rüde	16
2.3.2.7. Kater	16

2.4.	Bedeutung einiger Bestandteile von Sperma- verdünnern unter besonderer Berücksichtigung der in den eigenen Versuchen verwendeten Substanzen	17
2.4.1.	Puffer	17
2.4.2.	Zucker	18
2.4.3.	Milch	19
2.4.4.	Eidotter	20
2.4.5.	Orvus-Es-Paste	22
2.4.6.	Kryoprotektiva	23
2.5.	Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma	25
2.6.	Flüssigkonservierung von Schafbocksperma	46
2.7.	Tiefgefrierkonservierung von Schafbocksperma	63
2.8.	Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma	87
2.9.	Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma	94
3.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	103
3.1.	METHODIK UND HERANGEZOGENE TIERE	103
3.1.1.	Auswahl geeigneter Spermaverdünner	103
3.1.2.	Herstellung der verwendeten Spermaverdünner	103
3.1.2.1.	Rezepturen der verwendeten Verdünner	103
3.1.2.1.1.	Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma	103
3.1.2.1.2.	Verdünner zur Flüssigkonservierung von Schafbocksperma	104
3.1.2.1.3.	Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung von Schafbocksperma	105
3.1.2.1.4.	Verdünner zur Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma	106
3.1.2.1.5.	Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma	107
3.1.2.2.	Reagenzien	107
3.1.2.3.	Praktische Durchführung der Verdünner- herstellung	109

3.1.2.4.	Messung von pH-Wert und Osmolalität der Verdünner	110
3.1.2.5.	Modifizierung von pH-Wert und Osmolalität der verwendeten Verdünner	111
3.1.3.	Samenspende	111
3.1.4.	Spermagewinnung	112
3.1.4.1.	Spermagewinnung beim Bullen	112
3.1.4.2.	Spermagewinnung beim Schafbock	112
3.1.4.3.	Spermagewinnung beim Ziegenbock	113
3.1.5.	Spermauntersuchung	113
3.1.5.1.	Beurteilungskriterien mit besonderem Schwerpunkt	113
3.1.5.1.1.	Motilität	113
3.1.5.1.2.	Lebend-Tot-Färbung	114
3.1.5.1.3.	Bestimmung von pH-Wert und Osmolalität	114
3.1.5.2.	Untersuchung der Nativejakulate	114
3.1.5.3.	Untersuchung der verdünnten Spermaproben	115
3.1.5.3.1.	Untersuchung der flüssigkonservierten Proben	115
3.1.5.3.2.	Untersuchung der tiefgefrorenen Proben	115
3.1.6.	Allgemeiner Versuchsaufbau	116
3.1.7.	Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma	118
3.1.7.1.	Versuchsanordnung	118
3.1.7.1.1.	pH-Wert	118
3.1.7.1.2.	Osmolalität	118
3.1.7.2.	Verdünnung und Aufbewahrung des Bullenspermas	118
3.1.7.3.	Untersuchung des verdünnten Spermas	119
3.1.8.	Flüssigkonservierung von Schafbockspersma	121
3.1.8.1.	Versuchsanordnung	121
3.1.8.1.1.	pH-Wert	121
3.1.8.1.2.	Osmolalität	121
3.1.8.2.	Verdünnung und Aufbewahrung des Schafbock-spermas	121
3.1.8.3.	Untersuchung des verdünnten Spermas	122

3.1.9.	Tiefgefrierkonservierung von Schafbocksperma	122
3.1.9.1.	Versuchsanordnung	122
3.1.9.1.1.	pH-Wert	122
3.1.9.1.2.	Osmolalität	122
3.1.9.2.	Verdünnung und Aufbewahrung des Schafbock- spermas	123
3.1.9.3.	Untersuchung des verdünnten Spermas	123
3.1.10.	Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma	126
3.1.10.1.	Versuchsanordnung	126
3.1.10.1.1.	pH-Wert	126
3.1.10.1.2.	Osmolalität	126
3.1.10.2.	Verdünnung und Aufbewahrung des Ziegenbock- spermas	126
3.1.10.3.	Untersuchung des verdünnten Spermas	127
3.1.11.	Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma	127
3.1.11.1.	Versuchsanordnung	127
3.1.11.1.1.	pH-Wert	127
3.1.11.1.2.	Osmolalität	127
3.1.11.2.	Verdünnung und Aufbewahrung des Ziegenbock- spermas	128
3.1.11.3.	Untersuchung des verdünnten Spermas	128
3.2.	ERGEBNISSE	131
3.2.1.	Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma	131
3.2.1.1.	Untersuchungen mit einem Triladyl ^R -Verdünner und einem Laktose-Verdünner mit originalem pH-Wert und verändertem pH-Wert	132
3.2.1.2.	Untersuchungen mit einem Triladyl ^R -Verdünner und einem Laktose-Verdünner mit originaler Osmolalität und veränderter Osmolalität	135
3.2.2.	Flüssigkonservierung von Schafbocksperma	138
3.2.2.1.	Untersuchungen mit einem Natriumzitat- Verdünner und einem Glukose-Phosphat-Verdünner mit originalem pH-Wert und verändertem pH-Wert	139

3.2.2.2.	Untersuchungen mit einem Natriumzitrat-Verdünnern und einem Glukose-Phosphat-Verdünnern mit originaler Osmolalität und veränderter Osmolalität	142
3.2.3.	Tiefgefrierkonservierung von Schafbocksperma	147
3.2.3.1.	Untersuchungen mit einem Magermilch-Verdünnern und einem TEST-M/OEP-Verdünnern mit originalem pH-Wert und verändertem pH-Wert	148
3.2.3.2.	Untersuchungen mit einem Magermilch-Verdünnern und einem TEST-M/OEP-Verdünnern mit originaler Osmolalität und veränderter Osmolalität	151
3.2.4.	Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma	156
3.2.4.1.	Untersuchungen mit einem Natriumzitrat-Verdünnern und einem Spermasol ^R -Milch 100-Verdünnern mit originalem pH-Wert und verändertem pH-Wert	157
3.2.4.2.	Untersuchungen mit einem Natriumzitrat-Verdünnern mit originaler Osmolalität und veränderter Osmolalität	160
3.2.5.	Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma	163
3.2.5.1.	Untersuchungen mit einem Tris-Verdünnern und einem Raffinose-Verdünnern mit originalem pH-Wert und verändertem pH-Wert	164
3.2.5.2.	Untersuchungen mit einem Tris-Verdünnern und einem Raffinose-Verdünnern mit originaler Osmolalität und veränderter Osmolalität	167
4.	DISKUSSION	171
5.	ZUSAMMENFASSUNG	178



6.	SUMMARY	180
7.	LITERATURVERZEICHNIS	182
	LEBENS LAUF	

1. EINLEITUNG

Spermien als hochspezialisierte Zellen reagieren schockartig gegenüber krassen Veränderungen der physikalischen und chemischen Eigenschaften ihrer Umgebung. Besonderes Interesse verdienen in diesem Zusammenhang pH-Wert und Osmolalität, da sie die Stoffwechselaktivität, Motilität und Membranpermeabilität und somit auch das Befruchtungsvermögen der Spermien erheblich beeinflussen.

Insbesondere im Rahmen der Spermaverarbeitung für den Einsatz in der künstlichen Besamung ist es von Bedeutung, auf welche Weise der Spermaverdünner als gleichsam "künstliches" Milieu die Spermien beeinflusst. Die Kenntnisse hierüber ermöglichen es, die Eignung verschiedener Verdünner für die Spermakonservierung bei den einzelnen Tierarten zu beurteilen sowie auch neue Konservierungsmedien zu entwickeln.

Die in der Literatur erwähnten Verdünner unterscheiden sich teilweise erheblich in pH-Wert und Osmolalität. In vielen Fällen sind hierfür keinerlei oder auch nur sehr ungenaue Angaben zu finden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Auswirkungen von pH-Wert und Osmolalität gebräuchlicher Spermaverdünner im Rahmen der Konservierung von Bullen-, Schafbock- und Ziegenbocksamen vergleichend zu untersuchen.

2. LITERATUR

2.1. Aufgaben und allgemeine Zusammensetzung von Spermaverdünnern

Die chemo-physikalische Zusammensetzung eines Spermaverdünners beeinflusst die physiologischen Eigenschaften und Funktionen der Spermien. Hierbei verdienen nicht nur die Einzelkomponenten des jeweiligen Verdünners eine besondere Aufmerksamkeit, sondern auch deren Wechselwirkungen untereinander (OBANDO und LUCENA, 1984).

In der Literatur findet sich eine schier unübersehbare Zahl der verschiedensten Spermaverdünner, die in den meisten Fällen aus unterschiedlichsten Variationen einiger weniger Standardrezepturen bestehen (WATSON, 1979).

Für eine erfolgreiche Spermakonservierung sollte ein Verdünner unter anderem folgende Eigenschaften aufweisen:

- Isotonie zum Seminalplasma (EIBL, 1959; MARTIN, 1966; WATSON, 1979)
- Ausreichender Gehalt an geeigneten und stabilen Puffer-substanzen, um pH-Verschiebungen durch aerobe und anaerobe Stoffwechselprodukte der Spermien abfangen zu können (EIBL, 1959; GRAHAM et al., 1972; VAN DEN BERG und ROSE, 1959; WATSON, 1979)
- Ausreichender Gehalt an Nährstoffen und Energiequellen für die Spermienzellen (EIBL, 1959; WATSON, 1979)
- Schutzwirkung vor spermienschädlichen Einflüssen, wie sie vor allem während des Abkühlens, Einfrierens und Wiederauftauens auftreten (EIBL, 1959; MARTIN, 1966; WATSON, 1979)

- Freisein von spermientoxischen Bestandteilen (EIBL, 1959; WATSON, 1979)

Alle genannten Eigenschaften zielen darauf ab, die volle Befruchtungsfähigkeit der Spermien während eines angemessenen Zeitraumes bei mehr oder weniger niedrigen Lagerungstemperaturen aufrechtzuerhalten (EIBL, 1959). Es gibt allerdings keinen Sperma-verdünner, der allen Anforderungen in gleicher Weise gerecht wird (WATSON, 1979).

2.2. Bedeutung des pH-Wertes bei der Spermakonservierung

2.2.1. Allgemeine Bemerkungen

Die Wasserstoffionenkonzentration, ausgedrückt als pH-Wert, ist zweifellos einer der wichtigsten Faktoren, die Motilität, Stoffwechselaktivität, zelluläre Integrität, Vitalität und Befruchtungsfähigkeit der Spermien beeinflussen (EIBL, 1959; MANN, 1964; SALISBURY et al., 1978). Auch die zur Wahrung sämtlicher Funktionen der Spermienzelle erforderlichen Enzymsysteme benötigen einen ganz bestimmten pH-Bereich (SALISBURY et al., 1978).

Spermien reagieren - unabhängig von der Tierart - unter Umständen relativ drastisch auf pH-Verschiebungen des sie umgebenden Milieus. Dies wird besonders bei der Betrachtung verschiedener Verdünnermedien im Rahmen der Spermakonservierung deutlich. So können bei extremen pH-Schwankungen Motilitätsverlust und erhebliche Akrosomenschäden beobachtet werden (BRÜCKNER und KÄMPFER, 1984).

Allgemein kann gesagt werden, daß saure Medien Motilität, Respiration und Glykolyse der Spermien verringern und alkalische Medien diese steigern (EIBL, 1959; SALISBURY et al., 1978). Die Verringerung der Spermienaktivität ist dabei, solange der pH-Wert nicht unter 5,5 absinkt, ein reversibler Vorgang, der sich durch Alkalisierung wieder aufheben läßt (NORMAN et al., 1958). Bezüglich der Befruchtungsfähigkeit des Spermas besteht, unter Beachtung tierartspezifischer Besonderheiten, eine gewisse Tendenz: Unabhängig davon, ob es sich um Nativsperma oder verdünntes Sperma handelt, nimmt mit steigendem pH-Wert des Spermas in den alkalischen Bereich die Befruchtungsfähigkeit ab (MENGER et al., 1986).

Nach einem natürlichen Deckakt oder auch bei der künstlichen Besamung kommen die Spermien auf ihrem Weg zum Ort der Befruchtung mit den Sekreten des weiblichen Genitales in Berührung, die in den einzelnen anatomischen Abschnitten sehr unterschiedliche

pH-Werte aufweisen (BRÜCKNER und KÄMPFER, 1984; BRÜCKNER und MENDER, 1985; OLDS und VAN DEMARK, 1957). Ein stark saurer oder stark alkalischer pH-Wert dieser Sekrete führt zu einer Immobilisierung der Spermien, während es bei einem pH-Wert im schwach alkalischen Bereich zu einer Zunahme der Spermienmotilität kommt (HAFEZ, 1980).

Auch im Zuge des Energiestoffwechsels der Spermien wird, vor allem durch Bildung von Milchsäure, eine pH-Verschiebung in die Spermien umgebenden Milieu hervorgerufen (BISHOP und WALTON, 1960; SALISBURY und LODGE, 1962). Um diese pH-Schwankungen unbeschadet überstehen zu können, besitzen Säugetierspermien in der Regel einen relativ weiten pH-Toleranzbereich von etwa 5,0 bis 8,5 (BLACKSHAW und EMMENS, 1951; CHANG und THORSTEINSSON, 1958; LARDY und PHILLIPS, 1943; WALES und WHITE, 1958).

Trotz dieses relativ weiten pH-Toleranzbereiches existiert für die Spermien einer jeden Spezies ein ganz bestimmtes pH-Optimum (SCHÜLKE, 1982). Dieses pH-Optimum scheint jedoch bei der Spermakonservierung während der einzelnen Verarbeitungsschritte unterschiedlich zu sein (BEAN et al., 1962; BEAN et al., 1963; BLACKSHAW, 1960; STEINBACH und FOOTE, 1967).

2.2.2. Bedeutung des pH-Wertes von Sperma verdünnern bei verschiedenen Tierarten

Im Folgenden soll auf diejenigen pH-Bereiche von Verdünnerrflüssigkeiten näher eingegangen werden, die sich im Rahmen der Spermakonservierung bei den einzelnen Spezies als am günstigsten erwiesen haben.

2.2.2.1. Bulle

Die meisten Autoren stimmen darin überein, daß sowohl in Flüssig- als auch in Tiefgefrierverdünnern pH-Werte im leicht sauren Bereich zwischen 6,5 und 6,9 eine bessere Motilität, Stoffwechselaktivität und Befruchtungsfähigkeit der konservierten Spermien ergeben als ein neutraler oder alkalischer pH-Wert (DAVIS et al., 1963; FOOTE, 1964; FOOTE, 1970 a; FOOTE, 1970 b; LARDY und PHILLIPS, 1943; PHILLIPS und LARDY, 1940; SALISBURY et al., 1978; STEINBACH und FOOTE, 1964; STEINBACH und FOOTE, 1967).

Im Gegensatz dazu fanden BLACKSHAW (1960) und FOOTE (1967), in Abhängigkeit vom verwendeten Verdünnern, eine bessere Überlebensrate der Spermien bei pH-Werten zwischen 7,0 und 7,5.

BLACKSHAW und EMMENS (1951) beobachteten in flüssigkonserviertem Bullensperma keine signifikanten Unterschiede in der Spermienmotilität in einem weiten pH-Bereich zwischen 5,3 und 8,5. Dennoch konnte die beste Motilität bei einem pH-Wert von 7,0 erzielt werden.

In Tris-, Fruktose- und Zitrat-Verdünnern blieb die Spermienmotilität in einem sauren pH-Bereich zwischen 5,7 und 6,0 unverändert, der Prozentsatz an Spermien mit geschwollenen Akrosomen nahm, verglichen mit höheren pH-Werten, deutlich zu (AALSETH und SAACKE, 1981).

Nach RICKARD et al. (1957) ist der optimale pH-Wert eines Verdünners auch abhängig von der Lagerungstemperatur des konservierten Spermas. Während die Spermienmotilität bei niedrigen Temperaturen von + 4° C bis + 6° C bei einem niedrigen pH-Wert zwischen 6,5 und 6,8 besser war als bei höherem pH-Wert, erwies sich bei Temperaturen von + 37° C bis + 39° C ein pH-Wert von 7,1 bis 7,4 als vorteilhafter.

2.2.2.2. Schafbock

Besonders bei der Konservierung von Schafbocksperma ist wegen der erforderlichen langsamen Abkühlung des meist nur gering verdünnten Samens und der damit verbundenen Anhäufung von Stoffwechselprodukten ein stabiler pH-Status äußerst wichtig (SCHLEICHER und BRÜCKNER, 1973). Hier wird auch eine Abhängigkeit der Wirkung des pH-Wertes von der chemischen Zusammensetzung des Verdünners deutlich.

In Tris-gepufferten Medien mit einem pH-Wert von 6,95 treten selbst nach 72-stündiger Lagerung von flüssigkonserviertem Schafbocksperma wesentlich weniger strukturelle Veränderungen an den Spermien auf als in Zitrat- oder Phosphat-Verdünnern mit einem pH-Wert von 6,45 bzw. 6,77. In den beiden letztgenannten Medien scheint bei längerer Lagerungsdauer des verdünnten Spermas die für die Integrität der Spermienzellen erforderliche Stabilität des Säure-Basen-Gleichgewichtes nicht gewährleistet zu sein (SCHLEICHER und BRÜCKNER, 1973).

In der Literatur gehen die Meinungen über den optimalen pH-Wert von Verdünnern zur Konservierung von Schafbockspermien sehr weit auseinander. Auf der einen Seite werden als pH-Optimum Werte im möglichst neutralen Bereich angegeben (EMMENS und BLACKSHAW, 1950; FIRST et al., 1961; PATT und NATH, 1969). Auf der anderen Seite zeigen Schafbockspermien beste Motilität, Stoffwechselaktivität und Überlebensrate, wenn der pH-Wert der verwendeten Verdünner im sauren Bereich zwischen 5,9 und maximal 7,0 liegt (AMIR und SCHINDLER, 1967; BAR-SAGIE et al., 1980; BARTOOV et al., 1980; BLACKSHAW und EMMENS, 1951; MENDER, 1983; QUINN und WHITE, 1968).

In Übereinstimmung hiermit erwähnen BRÜCKNER und KÄMPFER (1984) sowie BRÜCKNER und MENDER (1985), daß zum Erzielen hoher Konzeptionsraten von 65 bis 80 Prozent der optimale pH-Wert des Zervikovaginalsekretes, mit dem die Spermien unmittelbar nach

der Besamung in Berührung kommen, zwischen 5,9 und 6,4 liegt. Generell scheinen Schafbockspermien gegenüber pH-Verschiebungen in den sauren Bereich weniger empfindlich zu sein als gegenüber Verschiebungen in den alkalischen Bereich (BLACKSHAW und EMMENS, 1951).

2.2.2.3. Ziegenbock

FUKUHARA und NISHIKAWA (1973) untersuchten den Einfluß des pH-Wertes auf Motilität und Respiration von Ziegenbockspermien. Bezüglich der Spermienmotilität lag das pH-Optimum zwischen 7,0 und 7,2, bezüglich der Respiration etwas höher zwischen 7,2 und 7,5. Dies stimmt mit den Untersuchungen von HAMPEL (1951) überein, wonach Lebensdauer, Bewegungsaktivität und Befruchtungsfähigkeit von in einem Natriumzitrat-Medium verdünnten Ziegenbocksamen am besten sind, wenn der pH-Wert des Verdünners zwischen 7,02 und 7,50 liegt.

In einem Raffinose-Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung, dessen pH-Wert im Bereich zwischen 6,6 und 7,4 lag, fand PAGGI (1971) nach dem Auftauen 51,5 % vorwärtsbewegliche Spermien. Dagegen zeigten bei einem pH-Wert desselben Verdünners von unter 6,6 nur 48 % der Spermien eine Vorwärtsbeweglichkeit nach dem Auftauen, bei pH-Werten über 7,4 nur 41 %.

MATHEW et al. (1984) verdünnten Ziegenbocksperma in einem Tris-Eidotter-Medium mit pH-Werten von 6,5 bzw. 6,75 und 7,0 und lagerten den verdünnten Samen bei Temperaturen von + 3 bis + 5° C bzw. + 6 bis + 8° C. Bei der tieferen Aufbewahrungstemperatur betrug die über einen Zeitraum von 7 Tagen ermittelte durchschnittliche Spermienmotilität für die drei genannten pH-Werte 50,3 bzw. 51,5 und 51,1 %. Die entsprechenden Werte bei der höheren Aufbewahrungstemperatur lagen bei 59,7 bzw. 59,5 sowie 61,7 %.

2.2.2.4. Eber

Der pH-Wert von Verdünnern beeinflusst in erster Linie die Widerstandsfähigkeit von Eberspermien gegenüber tiefen Temperaturen. Allerdings verhalten sich Spermienmotilität und Morphologie der Akrosomen innerhalb desselben pH-Bereiches unterschiedlich. Während die Spermienmotilität in einem pH-Bereich zwischen 8,0 und 8,3 wesentlich weniger beeinträchtigt wird als bei niedrigeren pH-Werten, so kann hingegen eine deutliche Schädigung der Akrosomen bereits bei einem pH-Wert ab 7,3 und höher beobachtet werden (PURSEL et al., 1972).

2.2.2.5. Hengst

BOGART und MAYER (1950) lagerten flüssigkonserviertes Hengstsperma 48 Stunden lang in einem Phosphat-Eidotter-Verdünner mit unterschiedlichem pH-Wert zwischen 6,5 und 7,8. Die Spermienmotilität blieb in diesem pH-Bereich nahezu konstant.

2.2.2.6. Rüde

Hundespermien bleiben in einem relativ weiten pH-Bereich von etwa 5,0 bis 9,0 beweglich, wobei sie jedoch ihre beste Motilität im Bereich von 7,0 - 8,5 haben (WALES und WHITE, 1958). FOOTE und LEONHARD (1964) dagegen fanden für Hundesperma, das in einem Natriumzitrat-Verdünner bei + 5° C flüssigkonserviert wurde einen optimalen pH-Wert von 6,6. Hundesperma scheint - ähnlich wie Humansperma - gegenüber pH-Verschiebungen in den alkalischen Bereich unempfindlicher zu sein als gegenüber Verschiebungen in den sauren Bereich. Dies ist um so erstaunlicher, als der pH-Wert von Rüdenejakulaten im sauren Bereich zwischen 5,9 und 6,9 liegt (WALES und WHITE, 1958).

2.2.2.7. Kater

Bezüglich des pH-Optimums in Sperma verdünnern bzw. über den pH-Wert von Verdünnern für Katersperma sind aus der Literatur keine Angaben verfügbar.

2.3. Bedeutung der Osmolalität bei der Spermakonservierung

2.3.1. Allgemeine Bemerkungen

Die Anzahl der pro Volumeneinheit einer Lösung gelösten Bestandteile ergibt den osmotischen Druck dieser Lösung (BALDWIN, 1977). Für sich allein betrachtet jedoch hat eine Lösung, unabhängig von der Konzentration der in ihr gelösten Teilchen, auch osmotische Konzentration genannt, noch keinen osmotischen Druck. Erst an der Zellmembran als der Grenze zwischen dem extrazellulären und dem intrazellulären Milieu können osmotische Kräfte wirksam werden, da die Membran für gelöste Stoffe selektiv permeabel, für Wasser jedoch frei permeabel ist (PETRIDES, 1975). Die Anwesenheit gelöster Teilchen verändert proportional zu deren Konzentration zahlreiche physikalische Eigenschaften des reinen Lösungsmittels. Von besonderer Bedeutung ist dabei die Gefrierpunktserniedrigung, da mit ihrer Hilfe der osmotische Druck einer Lösung ermittelt werden kann (BALDWIN, 1977).

Allgemein wird im medizinischen Sprachgebrauch die osmotische Konzentration auf das Gewicht in Kilogramm des Lösungsmittels, i.d.R. Wasser, bezogen und ergibt die sogenannte Osmolalität. Der Gefrierpunkt von reinem Wasser liegt bei 0°C . Der Gefrierpunkt einer Lösung, die pro Kilogramm Lösungsmittel ein Mol einer gelösten Substanz enthält, ist auf $-1,86^{\circ}\text{C}$ erniedrigt. Eine solche Lösung wird als 1 osmolal bezeichnet (PETRIDES, 1975). Zur Berechnung der Osmolalität durch Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung Δ bedient man sich der folgenden Formel:

$$\text{Osmolalität (mOsmol/kg H}_2\text{O)} = \frac{\Delta \cdot 1000}{1,86}$$

Wird die Osmolalität einer Flüssigkeit, in der sich zelluläres Material - z.B. Spermien - befindet, verändert, kann es zu einem sogenannten osmotischen Streß und als dessen Folge zu einer

Beeinträchtigung der Zellmembran kommen (MERYMAN, 1971; MIRONESCU und SEED, 1977). Hierbei können sowohl hypotone als auch hypertone Verdünnerflüssigkeiten die Spermien negativ beeinflussen.

Hypotone Verdünner führen, besonders bei einem plötzlichen Wechsel der Osmolalität, zu einem Einströmen von Flüssigkeit in die Spermien (WATSON, 1979). Infolgedessen kommt es zu einem Anschwellen des Spermienkopfes bis hin zur Membranruptur (BERNDTSON und FOOTE, 1972; BREDDERMAN und FOOTE, 1969; DREVIUS und ERIKSSON, 1966; QUINN und WHITE, 1969), sowie zur Krümmung und Einrollung der Spermienchwänze (COOPER, 1985; LINDAHL und DREVIUS, 1964).

Befinden sich die Spermien dagegen in zum Seminalplasma hypertonen Lösungen, so tritt Flüssigkeit aus den Spermien aus, was eine Schrumpfung der Zellen bewirkt. Unterschreitet bei weiterem Austritt intrazellulärer Flüssigkeit das Volumen der Spermien einen gerade noch tolerierbaren Grenzwert, wird die strukturelle und funktionelle Integrität der Zellmembran irreversibel beeinträchtigt (BREDDERMAN und FOOTE, 1969; FISER et al., 1981; FISER und FAIRFULL, 1983; HAMMERSTEDT et al., 1978; MERYMAN, 1971).

Diesen Ausstrom intrazellulärer Flüssigkeit in hypertonen Lösungen macht man sich - innerhalb gewisser Grenzen - besonders bei der Tiefgefrierkonservierung von Spermien zunutze (WATSON, 1979). Die mengenmäßige Verminderung gefrierfähiger Flüssigkeit in den Spermien setzt das Ausmaß einer spermien-schädigenden intrazellulären Eisbildung herab (FISER et al., 1982; WATSON, 1979). Dies ist eine mögliche Erklärung für die allgemein gültige Aussage, wonach hypertone Verdünner die Spermienzellen weniger schädigen als hypotone Verdünner (BLACKSHAW und EMMENS, 1951; JONES, 1965; MANN, 1964; WATSON, 1979).

2.3.2. Bedeutung der Osmolalität von Sperma verdünnern bei den verschiedenen Spezies

Ähnlich wie für den pH-Wert so gilt auch für die Osmolalität, daß Spermien in der Lage sein müssen, recht unterschiedliche osmotische Verhältnisse ohne eine stärkere Beeinträchtigung ihrer physiologischen Funktionen zu tolerieren (MAHI und YANAGIMACHI, 1973), da sie in den Geschlechtswegen des weiblichen Tieres mit Sekreten von recht unterschiedlicher Osmolalität in Berührung kommen (OLDS und VAN DEMARK, 1957; ROTHSCCHILD und BARNES, 1954).

2.3.2.1. Bulle

Für die Konservierung von Bullensperma finden Verdünnern Verwendung, deren Osmolalität die Werte originärer Bullenejakulate, die zwischen 285 und 376 mOsm/kg liegen (RAO et al., 1966; SALISBURY et al., 1948), entweder überschreitet, unterschreitet oder mit ihnen gleichzusetzen ist.

Während BLACKSHAW (1960), MARTIN (1963) und ROTHSCCHILD und BARNES (1954) isotone Verdünnern empfehlen, ziehen andere Autoren eher hypotone Verdünnern mit einer Osmolalität zwischen 228 und 250 mOsm/kg vor (JONES und FOOTE, 1972 a,b). Im Gegensatz dazu sprechen sich STEINBACH und FOOTE (1967) für den Einsatz hypertoner Verdünnern aus.

PURSLEY und HERMAN (1950) untersuchten Lebensdauer und Morphologie von Bullenspermien in Lösungen mit einer Osmolalität zwischen 102 und 565 mOsm/kg. Die besten Ergebnisse ließen sich im Bereich zwischen 236 und 327 mOsm/kg erzielen, wobei die oberste, von den Spermien noch tolerierbare Grenze bei einer Osmolalität von 370 mOsm/kg zu liegen scheint.

Tris-Verdünnern zur Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma können einen osmotischen Druck zwischen 270 und 330 mOsm/kg auf-

weisen, ohne zu einer Beeinträchtigung der Spermienmotilität zu führen (COULTER zit. in PICKETT und BERNDTSON, 1974). In kombinierten Tris-Zitrat-Verdünnern liegt die für das Überleben tiefgefrorener Bullenspermien beste Osmolalität zwischen 244 und 297 mOsm/kg (YASSEN und FOOTE, 1967 a).

2.3.2.2. Schafbock

Den meisten Untersuchungen zufolge sollten Verdünnern für Schafbocksperma, und hier besonders solche zur Tiefgefrierkonservierung, einen osmotischen Druck aufweisen, der erheblich über dem der Nativejakulate von 295 bis 345 mOsm/kg liegt (KOUTSOURIS und VAUPEL, 1973; MÜLLER et al., 1977; SALAMON und LIGHTFOOT, 1969). So nahm der Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen mit steigender Osmolalität des verwendeten Magermilch-Verdünners von 200 bis 750 mOsm/kg zu und erreichte bei 600 bzw. 750 mOsm/kg ein Maximum von knapp über 50 % (FISER et al., 1981). Besamungsversuche mit TG-Sperma unter Verwendung eines hypertonen Magermilch-Verdünners von 600 mOsm/kg ergaben eine Trächtigkeitsrate von 67,5 % , verglichen mit 78,9 % bei Insemination mit Frischsperma (FISER et al., 1981), was in weiterführenden Untersuchungen bestätigt wurde (FISER und FAIRFULL, 1986).

Im Gegensatz zu diesen Angaben empfiehlt BLACKSHAW (1960) die Verwendung isotoner Verdünnern, da mit steigendem osmotischen Druck die Struktur der Spermienmembran beeinträchtigt wird (BAUER und LIEBENBERG, 1976).

SALAMON und LIGHTFOOT (1969) stellten eine Abhängigkeit der optimalen Osmolalität eines Tiefgefrierverdünners von dessen chemischer Zusammensetzung fest. So betrug in Eidotter-Zitrat-Verdünnern die günstigste Osmolalität 291 mOsm/kg, in Verdünnern auf der Basis von Eidotter und Zuckern 431 mOsm/kg und in Verdünnern aus Eidotter, Zitrat und Zuckern 361 bis 560 mOsm/kg, wobei zusätzlich eine Abhängigkeit von der Art des verwendeten Zuckers ermittelt werden konnte.

2.3.2.3. Ziegenbock

In der zugänglichen Literatur sind keine Angaben bezüglich des geeigneten oder optimalen osmotischen Druckes in Verdünnern zur Konservierung von Ziegenbocksperma zu finden.

2.3.2.4. Eber

Bei der Beurteilung der Auswirkungen der Osmolalität eines Verdünners auf Eberspermien, wird ein osmotischer Druck der Nativejakulate von 291 bis 339 mOsm/kg zugrunde gelegt (MANN, 1964).

In hypotonen Verdünnern von etwa 271 mOsm/kg kommt es, unabhängig von der sonstigen Zusammensetzung des Verdünners, zu einer deutlichen Schädigung der Spermienzellmembranen (KOBBER, 1985).

SCHILLING et al. (1984) fanden in Tris-Verdünnern mit unterschiedlichem osmotischen Druck zwischen 150 und 500 mOsm/kg im Bereich von 300 bis 400 mOsm/kg den höchsten Prozentsatz Spermien mit normalem akrosomalen Rand.

2.3.2.5. Hengst

Ausgehend von einer Osmolalität des Nativejakulates von 312 bis 334 mOsm/kg (MANN, 1964) zeigen Hengstspermien in hypotonen Glukoselösungen bei einer Osmolalität zwischen 255 und 285 mOsm/kg die höchste Durchschnittsgeschwindigkeit, aber auch den höchsten Prozentsatz an Kreis- bzw. Spiralbewegung, verglichen mit hypertonen Lösungen (TISCHNER et al., 1980). In isotonen und geringgradig hypertonen Lösungen ist die Durchschnittsgeschwindigkeit der Spermien zwar etwas niedriger, die Vorwärtsbewegung jedoch überwiegend geradlinig (TISCHNER et al., 1980).

In stark hypotonen Lösungen (unter 112 mOsm/kg) und stark hypertonen Lösungen (über 478 mOsm/kg) kommt es zu einem drastischen Rückgang der Spermengeschwindigkeit und des Prozentsatzes sich überhaupt noch bewogender Spermien (TISCHNER et al., 1980).

2.3.2.6. Rüde

Die Osmolalität von Natriumzitrat-Verdünnern zur Konservierung von Hundesperma sollte nach FOOTE und LEONHARD (1964) im Bereich zwischen 280 und 355 mOsm/kg liegen. Bei Werten unter 280 mOsm/kg kommt es zu einem rapiden Rückgang der Spermienmotilität (WALES und WHITE, 1958). Verglichen mit diesen Werten beträgt die Osmolalität von Nativejakulaten 312 bis 334 mOsm/kg (FOOTE und LEONHARD, 1964; MANN, 1964).

2.3.2.7. Kater

GLOVER und WATSON (1985) untersuchten die Auswirkungen unterschiedlicher Osmolalität im Bereich zwischen 195 und 390 mOsm/kg in einem TEST-Verdünnern auf den Prozentsatz motiler und ungefärbter Spermien in flüssigkonserviertem Katersperma. In hypotonen Verdünnern ab 260 mOsm/kg und darunter kam es zu einem deutlichen Rückgang des Prozentsatzes motiler Spermien auf etwa die Hälfte des Wertes bei 325 mOsm/kg. In hypertonen Verdünnern dagegen bis 390 mOsm/kg wurde der Prozentsatz motiler Spermien nur unwesentlich beeinträchtigt. Der Prozentsatz gefärbter Spermien jedoch stieg als Zeichen einer Membranschädigung an. Die genannten Autoren empfehlen daher zur Flüssigkonservierung von Katerspermien bei + 5° C die Verwendung eines isotonen bzw. leicht hypotonen Verdünners im Bereich zwischen 290 bis 325 mOsm/kg, wobei eine Osmolalität des Nativejakulates von 320 bis 344 mOsm/kg zugrunde gelegt wird.

2.4. Bedeutung einiger Bestandteile von Sperma verdünnern unter besonderer Berücksichtigung der in den eigenen Untersuchungen zur Verdünnherstellung verwendeten Substanzen

2.4.1. Puffer

Puffer sind, chemisch betrachtet, Systeme aus schwach dissoziierten Säuren oder Basen im Gemisch mit ihren Salzen. Sie sind in der Lage, H^+ -Ionen und OH^- -Ionen zu binden und dadurch Verschiebungen des pH-Wertes zu verhindern bzw. so gering wie möglich zu halten. Zu solchen pH-Verschiebungen innerhalb eines biologischen Systems kommt es durch von außen zugeführte Säuren oder Basen, aber auch im Zuge von Stoffwechselprozessen in diesem System (TASKER, 1980).

Nach dem Massenwirkungsgesetz ist das Verhältnis der Konzentration von Anionen, Wasserstoffionen und undissoziierter Säure konstant, was in der folgenden Gleichung zum Ausdruck kommt:

$$\frac{[Ac^-]}{[HAc]} \cdot [H^+] = K$$

Ac^- bedeutet dabei Anion und HAc die undissoziierte Säure (KARLSON, 1974).

Wird nun einem solchen Gleichgewichtssystem Säure zugesetzt, steigt zunächst die Konzentration der H^+ -Ionen, und der pH-Wert, der definitionsgemäß den negativen dekadischen Logarithmus der Konzentration von H^+ -Ionen darstellt, sinkt ab. Um das oben genannte Gleichgewicht neu einzustellen, muß die Konzentration an undissoziierter Säure HAc erhöht werden. Dies geschieht, indem sich Wasserstoffionen H^+ und Anionen Ac^- zu nicht dissoziierter Säure HAc verbinden. Dadurch wird der größte Teil der Wasserstoffionen abgefangen und neutralisiert, der pH-Wert bleibt relativ

konstant.

Übersteigt hingegen die Konzentration der zugeführten H^+ -Ionen diejenige der zu ihrer Bindung fähigen Anionen, dann kann sich kein Gleichgewicht mehr einstellen, und die Kapazität des Puffers ist erschöpft (KARLSON, 1974, LEHNINGER, 1985).

Die bei der Spermakonservierung gebräuchlichsten Puffer sind Zitrat- (CHANDLER et al., 1984; FOULKES et al., 1977; SALISBURY et al., 1941; STEINBACH und FOOTE, 1964), Phosphat- (LANZ et al., 1965; PHILLIPS et al., 1939), Carbonat- (VAN DEMARK und SHARMA, 1957) und Tris-Puffer (CHANDLER et al., 1984; STEINBACH und FOOTE, 1964). Daneben werden mit guten Konservierungsergebnissen auch organische Puffer auf der Basis von Aminen in Form komplexer Zwitterionen eingesetzt, wie z.B. TES, HEPES und viele andere mehr (GOOD et al., 1966; GRAHAM et al., 1972; PARRISH und FOOTE, 1980).

2.4.2. Zucker

Die Verwendung verschiedener Zuckerarten als Zusatz zu Sperma verdünnern beeinflusst zahlreiche physikalische und chemische Eigenschaften dieser Medien. Darüberhinaus üben Zucker auch eine gewisse Schutzfunktion gegenüber den Spermien aus (MARTIN, 1966).

Nach SALISBURY und LODGE (1962), LAPWOOD und MARTIN (1966) sowie WATSON (1979) erfüllen Zucker in Sperma verdünnern in erster Linie folgende Aufgaben:

- Bereitstellung rasch verfügbarer Energie zur Anregung und Aufrechterhaltung von Stoffwechsel und Motilität der Spermien
- Aufrechterhaltung des osmotischen Gleichgewichtes im Verdünnern

- Herabsetzung der bei Verdünnung und Einwirkung tiefer Temperaturen eintretenden Schädigung der Spermien

Die Zuckerarten, die diesen Anforderungen am ehesten gerecht werden, sind je nach Tierart, Konservierungsmethode und Lagerungstemperatur des verdünnten Spermas unterschiedlich (LAPWOOD und MARTIN, 1966; SALAMON, 1968).

Da ein ausführliches Eingehen auf die einzelnen verwendbaren Zuckerarten und ihre Besonderheiten den Rahmen der vorliegenden Arbeit sprengen würde, soll an dieser Stelle nur auf die entsprechenden Übersichten bei BLACKSHAW (1955), LAPWOOD und MARTIN (1966) sowie WATSON (1979) verwiesen werden.

2.4.3. Milch

Während AEHNEIT (1953) Milch wegen ihrer geringen Haltbarkeit und ihrer Eignung als Nährboden für Mikroorganismen als Bestandteil von Sperma verdünnern ablehnt, spricht JAQUET (1951; zit. in WEISS, 1952) von Milch als einem der geeignetsten Sperma verdünnungsmittel tierischer Herkunft überhaupt. pH-Wert und Osmolalität der Milch, ihr hoher Gehalt an Nährstoffen und Milchzucker sowie an hochwertigem Milcheiweiß und an zahlreichen Vitaminen wirken sich während der Konservierung und Lagerung des Spermas günstig auf dessen Überlebens- und Befruchtungsrate aus (PETERS, 1953 a; PETERS, 1953 b).

Vor ihrem Einsatz als Sperma verdünnern sollte Milch für etwa 10 Minuten auf $+ 92^{\circ}$ bis $+ 95^{\circ}$ C erhitzt werden. Dadurch kommt es zu einer Freisetzung von Sulfhydryl-Gruppen aus dem Milchprotein β -Lactoglobulin. Diese Sulfhydryl-Gruppen inaktivieren das in der Milch vorkommende spermientoxische Lactenin (BLACKSHAW, 1960 b; FLIPSE et al., 1954; THACKER und ALMQUIST, 1953; THACKER et al., 1954).

Die Schutzwirkung von Milch gegenüber einem Kälteschock der Spermien sowie allgemein gegenüber niedrigen Temperaturen, geht von den Milchproteinen aus, besonders dem Lactalbumin, dem β -Lactoglobulin und dem Casein. Diese bilden eine schützende Kolloidhülle um die Spermienzellen und verhindern eine schädliche Zunahme der Permeabilität der Spermienzellmembran (CHOONG und WALES, 1962; CHOONG und WALES, 1963).

Neben Vollmilch von Kuh und Schaf (JONES, 1969; PETERS, 1953a; ROYCHOUDHURY und DUBAY, 1977; WEISS, 1952) wird besonders Magermilch als Sperma verdünner verwendet (BLACKSHAW, 1960; LAPWOOD et al., 1972; PETERS, 1953 b; WEISS, 1952), letztere vorzugsweise in Form von Magermilchpulver (FISER und FAIRFULL, 1986; BLACKSHAW, 1960).

2.4.4. Eidotter

Seit PHILLIPS im Jahre 1939 zum ersten Mal von einem erfolgreichen Einsatz von Eidotter als Zusatz zu Sperma verdünnern berichtete, hat sich dieser als beinahe unentbehrlicher Bestandteil von Sperma verdünnern erwiesen (AEHNELT, 1953; FOULKES, 1977; KAMPSCHMIDT et al., 1953; MAC DONALD und FOULKES, 1981).

Dennoch scheinen im Hinblick auf die Eignung von Eidotter als Verdünnerbestandteil tierartliche Unterschiede zu bestehen. Bei der Konservierung von Bullen-, Schafbock- oder Hengstesperma ist der Zusatz von Eidotter zu den verwendeten Verdünnern im allgemeinen problemlos (BOGART und MAYER, 1950; ENTWISTLE und MARTIN, 1972; FOULKES, 1977; MARTIN und KLUG, 1979; OSTASHKÓ et al., 1984; PETERS, 1953 b; PROVINCE et al., 1984; SALAMON und LIGHTFOOT, 1967; SALAMON und LIGHTFOOT, 1969; WATSON und MARTIN, 1973; WATSON und MARTIN, 1975 a; WATSON und MARTIN, 1975 b).

Dagegen ist bei der Verdünnung von Ziegenbocksamen in eidotterhaltigen Medien eine etwas differenzierte Betrachtungsweise erforder-

derlich (MEMON und OTT, 1981). Einige Autoren erzielen - gemessen an Motilität, Lebensdauer und Befruchtungsvermögen der Spermien - ein gutes Konservierungsergebnis, wenn Ziegenbocksperma ohne jegliche Vorbehandlung unmittelbar nach seiner Gewinnung mit eidotterhaltigen Medien verdünnt wurde (BUHMANN, 1952; GRÜTTEMEIER, 1969; HAMPEL, 1951; HUMKE, 1959; KOLK, 1985; NICOLAI, 1957; PAGGI, 1971; ROSENWINKEL, 1953; SAMOUILIDIS, 1970).

Im Gegensatz dazu muß anderen Untersuchungen zufolge vor der Konservierung von Ziegenbocksperma in eidotterhaltigen Verdünnern erst das Seminalplasma durch sogenanntes Waschen der Nativejakulate in physiologischen Lösungen (MANN und LUTWAK-MANN, 1981) entfernt werden. Im Seminalplasma des Ziegenbockes findet sich das aus den Bulbourethraldrüsen stammende Enzym Phospholipase A (Lecithinase). Dieses Enzym hydrolysiert das Lecithin des Eidotter zu spermientoxischem Lysolecithin, welches seinerseits zu einer Koagulation des verdünnten Spermas und damit zu einem Motilitätsverlust führt (AAMDAL et al., 1965; IRITANI, 1980; ROY, 1957).

Das Entfernen des Seminalplasmas durch Waschen kann diesen die Spermien schädigenden Prozeß verhindern (BAY, 1986; CORTEEL, 1974; CORTEEL, 1975; CORTEEL et al., 1984; GRÖTTE, 1984; KUPFER-SCHMIED und MUTHER, 1977; NUNES et al., 1982; RITAR und SALAMON, 1982).

Der Zusatz von Eidotter zu Sperma verdünnern erfolgt mit dem Ziel, den negativen Effekt tiefer Temperaturen auf die Spermien so gering wie möglich zu halten (KAMPSCHMIDT et al., 1953) bzw. die Spermien vor den Schädigungen durch einen Kälteschock zu schützen (FISER und FAIRFULL, 1986 b; GRAHAM und FOOTE, 1987; SHERMAN, 1964). Diese Schutzwirkung des Eidotter beruht auf seinem hohen Gehalt an Lipoproteinen, wie z.B. Lipovitellin, sowie an Phospholipiden, wie Lecithin oder Cephalin (KAMPSCHMIDT et al., 1953; MAC DONALD und FOULKES, 1981; OSTASHKO et al., 1984; WATSON, 1976; WATSON, 1981; WATSON und MARTIN, 1975 b).

Diese Lipidkomponenten des Eidotters treten in eine komplexe Wechselbeziehung mit der Spermienzellmembran und führen zu deren Stabilisierung (BIALY et al., 1957; COOKSON et al., 1984; JONES und MARTIN, 1973; WATSON, 1975; WHITE et al., 1980). Daneben schützt Eidotter die Spermien auch vor der toxischen Wirkung exogener und endogener Peroxide (JONES und MANN, 1977 a; JONES und MANN, 1977 b).

2.4.5. Orvus - Es - Paste

Orvus-Es-Paste (OEP) ist, chemisch betrachtet, ein Natrium-Äthanolaminlaurylsulfat und gehört zu den grenzflächenaktiven Stoffen, den sogenannten Tensiden. Substanzen dieser Stoffgruppe setzen die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten herab (MUDRA und BUSCH, 1982). Vor allem in Tiefgefrierverdünnern bei Eber (BOEHNKE, 1973; HOLMSTRÖM, 1985; PAQUIGNON, 1985; SCHRADER, 1976) und Hengst (COCHRAN et al., 1984; LOOMIS et al., 1983; MARTIN et al., 1979) fand OEP bisher Verwendung.

OEP verbessert in Tiefgefriersamen nach dem Auftauen sowohl den Prozentsatz motiler Spermien als auch den Prozentsatz von Spermien mit intaktem Akrosom (PURSEL et al., 1978; TEKIN, 1982; WESTENDORF et al., 1975) und unterstützt die Aufrechterhaltung der Befruchtungsfähigkeit der konservierten Spermien (PURSEL et al., 1978).

Der Wirkungsmechanismus von OEP ist noch nicht genau geklärt. Wahrscheinlich wird durch die Herabsetzung der Oberflächenspannung eine bessere Benetzung der Spermienzellmembran erreicht und damit die Wechselwirkung zwischen Zellmembran und kryoprotektiven Bestandteilen des Verdünnners, wie z.B. Glyzerin, intensiviert (MUDRA und BUSCH, 1982; PAQUIGNON, 1985). Daneben wird aber auch eine positive Beeinflussung von Kristallbildung und Kristallgröße beim Tiefgefriervorgang (COURTENS und PAQUIGNON, 1985) sowie bestimmter Bestandteile des Eidotters diskutiert (PURSEL et al., 1978).

2.4.6. Kryoprotektiva

Kryoprotektiva haben die Aufgabe, Schäden, die während des Tiefgefrierprozesses an biologischem Material entstehen können, zu verringern bzw. zu verhindern (ROWE, 1966; SHERMAN, 1964). Dabei kann jedoch in keinem Fall ein hundertprozentiges Überleben des tiefgefrorenen biologischen Materials nach dem Auftauen erreicht werden (FAHY, 1986). Neben dieser schützenden Funktion können die verschiedenen Kryoprotektiva - in Abhängigkeit von ihrer Konzentration - an konserviertem zellulärem Material ähnliche Schäden hervorrufen wie der Tiefgefriervorgang selbst (ARNOLD et al., 1983; DÜZGÜNES, 1984; FAHY, 1981; FAHY, 1986; VAN DEN BERG und SOLIMAN, 1969).

Von besonderer Bedeutung ist dabei die Beeinträchtigung des Membransystems der Spermien. Die Motilität der Spermien kann dabei unverändert bleiben, die Befruchtungsfähigkeit dagegen kann erheblich absinken (BOWER et al., 1973; DARIN-BENNETT et al., 1973; DEMICK et al., 1976; PAQUIGNON, 1985; PURSEL und PARK, 1985; WATSON, 1979; WATSON und MARTIN, 1975 a; WILMUT und POLGE, 1977), insbesondere durch eine Schädigung der Akrosomen.

Allgemein können Kryoprotektiva in zwei große Gruppen eingeteilt werden (MAC GANN, 1978; MERYMAN et al., 1977; ROWE, 1966; WATSON, 1979). Zu der einen Gruppe gehören Substanzen, die in die zu konservierenden Zellen eindringen können, wie z.B. Glyzerin oder DMSO (LOVELOCK und POLGE, 1954; SHERMAN, 1964). Diese Kryoprotektiva erfordern eine langsame Abkühlrate und werden in erster Linie zur Konservierung kernhaltiger Zellen verwendet (ROWE, 1966).

Zur anderen Gruppe gehören Kryoprotektiva, die ihre Schutzfunktion rein extrazellulär ausüben, wie Polyvinylpyrrolidon, Polyglykol, Dextran, Laktose oder Sucrose (MERYMAN et al., 1977). Bei Verwendung - hauptsächlich für kernlose Zellen - ist eine rasche Abkühlrate erforderlich (ROWE, 1966).

Nach Möglichkeit sollten Kryoprotektiva in der Lage sein, Zellmembranen ungehindert zu penetrieren, um keine osmotische Wirkung zu entfalten. Bei der Wahl eines geeigneten Kryoprotektivums sollte daher den Substanzen der erstgenannten Gruppe der Vorzug gegeben werden (MERYMAN, 1971).

Obwohl bisher sehr viele und chemisch sehr unterschiedliche Substanzen bezüglich ihrer Eignung als Gefrierschutz für Spermien erprobt wurden, so gilt doch heute nach wie vor Glyzerin als das Kryoprotektivum der Wahl (JEYENDRAN und GRAHAM, 1980; NEUBERT und MENDER, 1981; SCHRAMM und LÖHLE, 1976; SHERMAN, 1964; WILMUT und POLGE, 1977). Eine ausgezeichnete Übersicht über Gefrierschädigung und Gefrierschutz, insbesondere über die komplexen Schutzeffekte des Glyzerins, gibt WEITZE (1977).

2.5. Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über verschiedene Tiefgefrierverdünner für Bullensperma sowie über die bei deren Erprobung angewandten Beurteilungskriterien und die dabei erzielten Ergebnisse.

Tab. 1: Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
BLACKSHAW, 1955 a)		Prozentsatz ungefärbter Spermien nach dem Auftauen
	1) Natriumzitat- Phosphatpuffer- Eidotter- Glyzerin	42 %
	2) Natriumzitat- Phosphatpuffer- Arabinose-Eidotter- Glyzerin	53 %
BLACKSHAW, 1955 b)		Prozentsatz ungefärbter Spermien nach dem Auftauen
	1) Natriumzitat- Phosphatpuffer- Eidotter-Glyzerin	53 %
	2) Natriumzitat- Phosphatpuffer- Lecithin-Glyzerin	46 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
O'DELL und AIMQUIST, 1957	3) Natriumzitrat- Phosphatpuffer- Lipoprotein- Glyzerin	35 %	
	4) Vollmilch-Glyzerin	30 %	
		Prozentsatz motiler Spermien sofort nach dem Auftauen und nach einer anschließenden 48-stündigen Lagerung des Spermas bei + 5° C	
	1) Magermilch-Glyzerin	n. Auftauen	42 %
		n. 48 Std.	32 %
	2) Magermilch-Cystein- hydrochlorid-Glyzerin	n. Auftauen	44 %
		n. 48 Std.	33 %
	3) Vollmilch-Glyzerin	n. Auftauen	43 %
		n. 48 Std.	32 %
	4) Vollmilch-Cystein- hydrochlorid-Glyzerin	n. Auftauen	43 %
		n. 48 Std.	36 %
	5) Natriumzitrat-Eidotter- Glyzerin	n. Auftauen	42 %
		n. 48 Std.	13 %
	6) Magermilch-Glyzerin mit Zusatz versch. Zucker	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen	
	- ohne Zucker	42 %	
	- Fruktose	45 %	

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
	- Glukose	43 %
	- Arabinose	43 %
ERICKSON und GRAHAM, 1959	1) Vollmilch-Glyzerin- Penicillin-Dihydro- streptomycinsulfat	Non-Return-Rate 66,2 % (945 Erstbesamungen)
	2) Magermilch-Glyzerin- Penicillin-Dihydro- streptomycinsulfat	65,3 % (902 Erstbesamungen)
	3) Natriumzitrat-Eidotter- Glyzerin-Penicillin- Dihydrostreptomycin- sulfat	64,7 % (934 Erstbesamungen)
	4) Glycin-Glukose- Eidotter-Glyzerin- Penicillin-Dihydro- streptomycinsulfat	41,3 % (928 Erstbesamungen)
BEAN et al., 1962	1) Vollmilch-Glyzerin	Spermienmotilität im Zitrat- verdünner besser als im Milch- verdünner
	2) Natriumzitrat- Eidotter-Glyzerin	
BEAN et al., 1963		Durchschnittl. Prozentsatz vorwärtsbewegl. Spermien nach dem Auftauen bei Anwen- dung versch. Einfrierverfahren

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
	1) Natriumzitrat-Eidotter-Glyzerin	35 %
	2) Vollmilch-Glyzerin	37 %
DAVIS et al., 1963 b)		Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach mehrtägiger Lagerung des verdünnten Samens bei - 85° C
	1) Tris-Zitronensäure-Eidotter-Glyzerin-Penicillin-Dihydrostreptomycin	1 Tag 23 - 53 % 15 Tage 16 - 45 % 60 Tage 7 - 40 % (in Abhängigkeit von Tris-Konzentration)
	2) Natriumzitrat-Eidotter-Glyzerin-Penicillin-Dihydrostreptomycin	1 Tag 49 % 15 Tage 40 % 60 Tage 29 %
FISCHER und THIER, 1963	Laiciphos ^R -Glyzerin	Non-Return-Rate 72,5 % (4515 Erstbesamungen)
MARTIN, 1963 a)	1) Natriumzitrat-Fruktose-Phosphatpuffer-Lecithin-Glyzerin 2) Natriumzitrat-Phosphatpuffer-Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien und ungefärbter Spermien nach dem Auftauen: in isotonen Verdünnern Werte deutlich höher als in hypertonen Verdünnern

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
	3) Natriumzitrats- Fructose-Phosphat- puffer-Eidotter- Glycerin	
	(alle Verd. mit unterschiedl. Osmolalität)	
STEINBACH und FOOTE, 1964		Durchschnittl. Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen bei Anwendung versch. Glycerinkonzentrationen und Äquilibrationszeiten
	1) Natriumzitrats- Eidotter-Glycerin	
	- ohne Fructose	29,5 %
	- mit Fructose	32,5 %
	2) Tris-Zitronensäure- Eidotter-Glycerin	
	- ohne Fructose	36,0 %
	- mit Fructose	36,0 %
	3) Magenmilch-Glycerin	
	- ohne Fructose	23,0 %
	- mit Fructose	27,5 %
CLEGG et al., 1965	Natriumzitrats- Eidotter-Glycerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen in Abhängigkeit von Art und Länge der Äquilibration sowie der Temperatur z. Zt. des Glycerinzusatzes (+ 5 od. + 32 ° C)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
		+ 5° C: 27 - 48 %	
		+ 32° C: 11 - 32 %	
MARTIN, 1965		Prozentsatz motiler Spermien (Mot.) u. ungefärbter Spermien (Ungef.) nach dem Auftauen	
		Mot. (%)	Ungef. (%)
	1) Natriumzitat- Phosphatpuffer- Lecithin-Glyzerin	36,7	38,3
	2) Natriumchlorid- Phosphatpuffer- Lecithin-Glyzerin	36,7	41,3
	3) Fruktose-Phosphat- puffer-Lecithin- Glyzerin	13,3	21,0
	4) Glycin-Phosphatpuffer- Lecithin-Glyzerin	4,0	14,7
	5) Natriumzitat- Glycin-Phosphatpuffer- Lecithin-Glyzerin	36,7	46,3
	6) Natriumzitat-NaCl- Phosphatpuffer- Lecithin-Glyzerin	36,7	39,7
	7) NaCl-Fruktose- Phosphatpuffer- Lecithin-Glyzerin	30,0	45,7

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
		Mot. (%)	Ungef. (%)
	8) Natriumzitat- Fructose-Phosphatpuffer- Lecithin-Glycerin	50,0	51,3
	9) Fructose-Glycin- Phosphatpuffer- Lecithin-Glycerin	13,3	22,7
	10) NaCl-Glycin- Phosphatpuffer- Lecithin-Glycerin	23,3	33,0
	11) Natriumzitat-NaCl-Glycin- Phosphatpuffer- Lecithin-Glycerin	36,7	44,0
	12) NaCl-Fructose-Glycin- Phosphatpuffer- Lecithin-Glycerin	33,3	32,7
	13) Natriumzitat-Fructose- Glycin-Phosphatpuffer- Lecithin-Glycerin	46,7	44,3
	14) Natriumzitat-NaCl- Fructose-Phosphatpuffer- Lecithin-Glycerin	43,3	40,3
	15) Natriumzitat-NaCl- Fructose-Glycin- Phosphatpuffer- Lecithin-Glycerin	36,7	43,7

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
YASSEN und FOOTE, 1967 c)	Tris-Zitronensäure- Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien vor und nach dem Einfrieren	
		vor Einfrieren	52 %
		nach 1-stündiger Lagerung bei - 196° C	40 %
		nach 7-tägiger Lagerung bei - 196° C	35 %
AAMDAL und ANDERSEN, 1968		Prozentsatz ungefärbter Spermien nach dem Auftauen und Non-Return-Rate nach Anwendung versch. Auftauzeiten und -temperaturen	
	1) Laktose-Eidotter- Glyzerin	Ungefärbte Spermien:	
		75° C/12 sec	62,3 %
		35° C/30 sec	47,7 %
		Non-Return-Rate	
		(Auftauen d. Pailletten b. + 75 ° C f. 12 sec)	
		72,0 % (150 Besamungen)	
	2) Magermilchpulver- Fructose-Eidotter- Glyzerin	Ungefärbte Spermien:	
		75° C/12 sec	64,6 %
		35° C/30 sec	46,9 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
		Non-Return-Rate: (Auftauen der Ampullen im Eiswasser) 67,8 % (158 Besamungen)
BOCK, 1968	Unidyl ^R -Laktose- Eidotter-Glyzerin	Non-Return-Rate 66,7 % (64203 Erstbesamungen)
RAO et al., 1968	Natriumzitat- Eidotter-Glyzerin mit unterschiedl. Osmolalität (eingestellt mit versch. Natriumzitat- Konz.)	Prozentsatz lebender Spermien nach dem Auftauen
	- 260 mOsm/kg (hypoton)	35 %
	- 276 mOsm/kg (hypoton)	36 %
	- 297 mOsm/kg (in etwa isoton)	38 %
	- 317 mOsm/kg (hyperton)	31 %
	- 375 mOsm/kg (hyperton)	15 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
SCHMIDT, 1968	1) Glukose-Eidotter-Glyzerin-Penicillin-Streptomycinsulfat	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen 26,7 %
	2) Raffinose-Eidotter-Glyzerin-Penicillin-Streptomycinsulfat	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen 26,7 %
	3) Laktose-Eidotter-Glyzerin-Penicillin-Streptomycinsulfat	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen 31,9 %
		Non-Return-Rate ($30 \cdot 10^6$ vorwärtsbewegl. Spermien/Pellet)
		64,3 % (1545 Erstbesamungen)
HAHN et al., 1969	1) Laiciphos ^R -Eidotter-Glyzerin	Non-Return-Rate ($30 \cdot 10^6$ Spermien/0,5 ml-Paillette)
	2) Tris-Zitronensäure-Fruktose-Eidotter-Glyzerin	Non-Return-Rate ($30 \cdot 10^6$ Spermien/1 ml-Ampulle)
		66,9 % (11035 Erstbesamungen)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
PAUFLE, 1969	Tris-Zitronensäure- Fructose-Eidotter- Glycerin	Non-Return-Rate ($60 - 70 \cdot 10^6$ vorwärtsbewegl. Spermien pro 0,35 ml-Ampulle) 71,4 % (3941 Erstbesamungen)
FOOTE, 1970 b)		Non-Return-Rate bei versch. pH-Wert der Ver- düner ($10 - 24 \cdot 10^6$ motile Spermien/ 0,8 ml-Ampulle)
	1) Tris-Zitronensäure- Fructose-Eidotter- Glycerin	
	pH-Wert 6,5	74,1 % (3947 Erstbesamungen)
	pH-Wert 6,75	71,9 % (3984 Erstbesamungen)
	2) Natriumzitat-Eidotter- Glycerin	
	pH-Wert 6,5	70,2 % (7533 Erstbesamungen)
	pH-Wert 7,0	69,7 % (7432 Erstbesamungen)
GEBAUER et al., 1970	Alle im folgenden aufge- führten Verdüner enthielten Zusätze von Eidotter-Protein, Casein, Lipoprotein, BSA, Milchfett-Triglyceride bzw. Cholesterin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen bei Zusatz einer der nebenstehend ge- nannten Substanzen zum Ver- düner:

Autoren	Verdünnern	Beurteilungskriterien
		Zusatz von Lipoprotein in Tris-Verdünnern am besten für Aufrechterhaltung der Spermienmotilität nach dem Auftauen
	1) Tris-Zitronensäure- Glyzerin	
	2) NJ 2 (Natriumzitat- Glukose- CaCl_2 - MgCl_2 - KCl - NaCl - NaH_2PO_4)- Glyzerin	
	3) Minn-Go (Natriumzitat-Fruktose- Glukose-Adonitol-Sorbitol- Mannitol-Erythrytol- Inositol-Galactitol- Zitronensäure)-Glyzerin	
	4) Tris-Go (entspricht Minn-Go; anstelle von Natrium- zitat Tris)	
KUPFERSCHMIED, 1971		Non-Return-Rate ($30 - 40 \cdot 10^6$ vorwärtsbeweg- licher Spermien pro 0,5 ml- Paillette)
	1) Natriumzitat-Fruktose- Eidotter-Glyzerin- Penicillin-Streptomycin- sulfat	71,5 % (4009 Erstbesamungen)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
	2) Tris-Zitronensäure- Fruktose-Eidotter- Glyzerin-Penicillin- Streptomycinsulfat	70,5 % (4010 Erstbesamungen)	
BERNDTSON und FOOTE, 1972		Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen	
	1) Tris-Zitronensäure- Eidotter-Glyzerin- Penicillin-Streptomycin	43 %	
	2) Natriumzitrat-Eidotter- Penicillin-Streptomycin	38 %	
	3) Tris-Zitronensäure- Laktose-Eidotter- Glyzerin-Penicillin- Streptomycin	47,2 %	
	4) Natriumzitrat-Laktose- Eidotter-Penicillin- Streptomycin	47,4 %	
GRAHAM et al., 1972		Prozentsatz motiler Spermien (Mot.) und GOT (in mU/10 ⁹ Spermien) nach dem Auftauen	
		Mot.	GOT
	1) MES-Eidotter-Glyzerin	39,6 %	313,5
	2) PIPES-Eidotter-Glyzerin	43,7 %	313,0

Autoren	Verdünnern	Beurteilungskriterien	
	3) BES-Eidotter-Glyzerin	44,8 %	292,5
	4) MOPS-Eidotter-Glyzerin	44,0 %	310,1
	5) TES-Eidotter-Glyzerin	49,9 %	280,2
	6) HEPES-Eidotter-Glyzerin	43,1 %	319,0
	7) TRICINF-Eidotter-Glyzerin	44,9 %	324,6
	8) Trispuffer-Eidotter-Glyzerin	34,2 %	319,0
	9) Phosphatpuffer-Eidotter-Glyzerin	32,8 %	244,4
	10) Natriumzitat-Eidotter-Glyzerin	43,4 %	282,2
SZILAGYI und MÜLLER, 1972	Laktose-Eidotter-Glyzerin	Eignung der Ejakulate zum Tiefgefrieren: nur 45 - 65 % der untersuch- ten Ejakulate zeigen ein befriedigendes Auftauergebnis, d.h. mind. 50 % motile Sper- mien nach Auftauen	
PACE und GRAHAM, 1974	TES-Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen 40 %	

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
ROOS et al., 1974	Tris-Zitronensäure- Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen bei Anwendung verschiedener Auftauverfahren <u>+70°C/10sec</u> <u>+40°C/20sec</u> <u>+40°C/30sec</u> 55,5 % 47,5 % 53,5 % Non-Return-Rate (30 · 10⁶ Spermien/Minitüb) 68,0 % (3754 Erstbesamungen)
ALMQUIST, 1975	Magermilch-Fruktose- Glyzerin-Penicillin- Dihydrostreptomycin	Non-Return-Rate in Abhängigkeit von der Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien pro Besamungsdosis - 10 · 10⁶ 61,1 % (1576 Erstbes.) - 15 · 10⁶ 61,5 % (1488 Erstbes.) - 20 · 10⁶ 69,5 % (1539 Erstbes.)
WIGGIN und ALQUIST, 1975 a)	Magermilch-Fruktose- Glyzerin-Penicillin- Streptomycin	Prozentsatz motiler Spermien nach 9-11-tägiger Lagerung des verdünnten Spermas bei - 196°C, in Abhängigkeit von Glyzerinkonzentration, Äquilibrationszeit und Auftautemperatur 39,0 - 43,2 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien												
BECKER et al., 1977		Prozentsatz motiler Spermien (Mot %) und Spermien mit normalem Akrosom (NA %) nach dem Auftauen und während einer 8-stündigen Inkubation bei + 37° C in Abhängigkeit von der Glycerinkonzentration												
	1) Tris-Eidotter-Glyzerin	<table><tr><td></td><td><u>Mot %</u></td><td><u>NA %</u></td></tr><tr><td>n.Auft.</td><td>33,5-55,0</td><td>71,5-87,2</td></tr><tr><td>4 Std.</td><td>23,5-46,5</td><td>53,0-79,0</td></tr><tr><td>8 Std.</td><td>4,2-20,0</td><td>42,9-66,9</td></tr></table>		<u>Mot %</u>	<u>NA %</u>	n.Auft.	33,5-55,0	71,5-87,2	4 Std.	23,5-46,5	53,0-79,0	8 Std.	4,2-20,0	42,9-66,9
	<u>Mot %</u>	<u>NA %</u>												
n.Auft.	33,5-55,0	71,5-87,2												
4 Std.	23,5-46,5	53,0-79,0												
8 Std.	4,2-20,0	42,9-66,9												
	2) Natriumzitrats-Eidotter-Glyzerin	<table><tr><td></td><td><u>Mot %</u></td><td><u>NA %</u></td></tr><tr><td>n.Auft.</td><td>37,3-42,7</td><td>53,0-79,0</td></tr><tr><td>4 Std.</td><td>28,8-37,7</td><td>76,5-79,2</td></tr><tr><td>8 Std.</td><td>9,2-13,5</td><td>61,1-67,4</td></tr></table>		<u>Mot %</u>	<u>NA %</u>	n.Auft.	37,3-42,7	53,0-79,0	4 Std.	28,8-37,7	76,5-79,2	8 Std.	9,2-13,5	61,1-67,4
	<u>Mot %</u>	<u>NA %</u>												
n.Auft.	37,3-42,7	53,0-79,0												
4 Std.	28,8-37,7	76,5-79,2												
8 Std.	9,2-13,5	61,1-67,4												
COULTER und FOOTE, 1977		Prozentsatz motiler Spermien im Verlauf einer 18-monatigen Lagerung des Spermas bei - 196°C												
	1) Natriumzitrats-Eidotter-Glyzerin	40,7 %												
	2) Promine-D-Verd. (gepuffert mit Tris-Zitronensäure)	37,4 %												
FOULKES et al., 1977		Non-Return-Rate (20 · 10 ⁶ Spermien/0,25 ml-Paillette)												

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
	1) Magermilch-Fruktose- Glyzerin-Penicillin- Streptomycinsulfat	60,6 % (1432 Besamungen)
	2) Magermilch-Eidotter- Fruktose-Glyzerin- Penicillin-Strepto- mycinsulfat	64,5 % (1433 Besamungen)
	3) Natriumziträt- Eidotter-Glyzerin- Penicillin-Strepto- mycinsulfat	65,8 % (1434 Besamungen)
	4) Laktose-Eidotter- Glyzerin-Penicillin- Streptomycinsulfat	67,3 % (1446 Besamungen)

FOULKES und
STEWART, 1977

Prozentsatz motiler Spermien
nach dem Auftauen (Mot %) und
Non-Return-Rate (NRR %; $20 \cdot 10^6$
Spermien/0,25 ml-Paillette; je
Verdüner 594 Tiere besamt)

	Mot (%)	NRR (%)
1) Natriumziträt- Lipoprotein-Glyzerin	49	66,1
2) Natriumziträt- Eidotter-Glyzerin	39	67,1
3) Laktose-Eidotter- Glyzerin	35	66,4

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
ZARAZUA et al., 1977	Natriumzitat- Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen, in Abhängig- keit von Verdünnungsgrad, Eidotter- u. Glyzerinkonzen- tration sowie Konfektionierungs- art des verdünnten Spermas 15,6 - 26,8 %
UNAL et al., 1978		Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen in Abhängig- keit von der Zucker- und Gly- zerinkonzentration (Angabe der Optimalwerte entspr. der besten Zuckerkonzentration und der besten Glyzerinkonz. von 6 %)
	1) Natriumzitat-Eidotter- Fruktose-Glyzerin	27 %
	2) Natriumzitat-Eidotter- Raffinose-Glyzerin	29 %
	3) Natriumzitat-Eidotter- Laktose-Glyzerin	31 %
ALMQUIST et al., 1979	1) Magenmilch-Glyzerin- Penicillin-Streptomycin 2) Vollmilch-Glyzerin- Penicillin-Streptomycin	Non-Return-Rate in Abhängigkeit von der Auftaugeschwindigkeit: 12 od. 30 sec bei + 32 bis 35° C (10-20 · 10 ⁶ motile Spermien/0,3ml- Paillette) 12sec 70,1 % (10682 Besamungen) 30sec 72,0 % (10742 Besamungen)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
SMITH et al., 1979	Natriumzitat-Eidotter- Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen und nach 2-stündiger Inkubation bei + 38° C (Mittelwert) 20,9 % Prozentsatz Spermien mit intaktem Akrosom nach dem Auftauen 70,2 %
FOLKES et al., 1980	Laktose-Eidotter- Glyzerin-Streptomycin- sulfat	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen 31,5 % Non-Return-Rate (20 · 10⁶ Spermien/0,25 ml-Paillette) 61,3 % (1923 Erstbesamungen)
JEYENDRAN und GRAHAM, 1980	1) TES-NaOH-KOH- Eidotter-Glyzerin 2) TES-Tris-Eidotter- Glyzerin 3) TES-NaOH-KOH- Eidotter - hochmole- kulare Kryoprotektiva	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen sowie Membranintegrität der Spermien (gemessen an mIU GOT/10⁹ Spermien): Die glyzerin-haltigen Verdüner erwiesen sich den anderen Verdünnern als überlegen

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
	4) TES-Tris-Eidotter- niedermolekulare Kryoprotektiva	
WASS et al., 1980		Non-Return-Rate ($20 \cdot 10^6$ Spermien/Minipaillette)
	1) Laiciphos-Glyzerin	77,1 % (10 523 Besamungen)
	2) Triladyl	78,4 % (10 595 Besamungen)
	3) Tris-Zitronensäure- Fruktose-Eidotter- Glyzerin-Antibiotika	76,9 % (17 163 Besamungen)
CHANDLER et al., 1984		Prozentsatz Spermien mit in- taktem Akrosom nach dem Auf- tauen in Abhängigkeit von Auf- tau- und Konfektionierungs- methode des Spermas (nur Maxi- malwerte angegeben)
	1) Trispuffer-Eidotter Glyzerin	58 - 79 %
	2) Natriumziträt-Eidotter- Glyzerin	64 - 76 %
	3) Magermilch-Glyzerin	66 - 74 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
HAARD und und HAARD, 1984	Laiciphos-Glyzerin	Non-Return-Rate in Abhängig- keit von der Auftauzeit; 12 bzw. 30 sec ($15 - 20 \cdot 10^6$ Spermien/0,25 ml - Paillette) 60,3 - 75,4 % (38 990 Besamungen)

2.6. Flüssigkonservierung von Schafbocksperma

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht verschiedener Flüssigverdünner für Schafbocksperma sowie der bei deren Erprobung angewandten Beurteilungskriterien und die dabei erzielten Ergebnisse.

Tab. 2: Verdünner zur Flüssigkonservierung von Schafbocksperma

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien	
DAUZIER et al., 1954		Prozentsatz motiler Spermien nach mehrtägiger Lagerung des verdünnten Spermas bei + 2 bis + 4° C	
		nach 5 Tagen	nach 8 Tagen
	1) 2% Natriumzitat- Eidotter	57 %	40 %
	2) 3% Natriumzitat- Eidotter	70 %	52 %
	3) 4% Natriumzitat- Eidotter	58 %	44 %
	4) Glukose-Na ₂ HPO ₄ - KH ₂ PO ₄ -Eidotter	37 %	22 %
	5) Glukose-NaHCO ₃ - Eidotter	54 %	42 %
		Befruchtungsrate (Besamung tägl. 1 x mit je 10 cm ³ Sperma während gesamter Brunstdauer)	

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
	6) Natriumzitrat- 25 % Eidotter	66,6 % (21 Tiere besamt)
	7) Natriumzitrat- 5 % Eidotter	53,3 % (15 Tiere besamt)
	8) Glukose- Na_2HPO_4 - KH_2PO_4 -Eidotter	50 % (12 Tiere besamt)
	9) Natriumzitrat-Magnesium- sulfat-Calciumacetat- Eidotter	83,3 % (18 Tiere besamt)
	10) Magermilch	61,1 % (39 Tiere besamt)

FIRST et al.,
1961

Konzeptionsrate
($600 \cdot 10^6$ Spermien/0,2 ml-
Dosis)

1) Milch	47 % (15 Tiere besamt)
2) Natriumzitrat-Eidotter	21 % (14 Tiere besamt)
3) Natriumzitrat-Glukose- Harnstoff-Eidotter	18 % (17 Tiere besamt)

SCHINDLER und
AMIR, 1961

Zeitraum in Tagen, bis keine
Spermienmotilität mehr fest-
gestellt werden kann

1) IVT	22,5
2) Natriumzitrat-Glycin- Eidotter	15,3

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
	3) Natriumzitrat-Eidotter	14,1
	4) Kuhmilch	9,6
	5) Kuhmilch-Eidotter	9,1
	6) Fruktose- $\text{Na}_2\text{HPO}_4^-$ KH_2PO_4 -Eidotter	9,1
	7) Schafsmilch (mit und ohne Eidotter)	8,7
SALAMON und ROBINSON, 1962 a)		Ablamtrate nach einmaliger Insemination ($150 \cdot 10^6$ Sper- mien/0,2-0,3 ml)
	1) Kuhvollmilch	69,4 % (324 Tiere besamt)
	2) Kuhmagermilch	67,2 % (411 Tiere besamt)
	3) Schafsmilch	47,3 % (93 Tiere besamt)
SALAMON und ROBINSON, 1962 b)		Ablamtrate nach Besamung mit frisch verdünntem, 3 Tage bei 0 bis 5°C sowie 3 bis 5 Std. bei + 10 bis + 15°C gelager- tem Sperma ($170 \cdot 10^6$ Spermien/0,2 ml-Dosis)
	1) Natriumzitrat-Glukose- Eidotter	frisch 68,4 % (301 Tiere besamt) 10-15°C 63,9 % (396 Tiere besamt) 0 - 5°C 45,0 % (160 Tiere besamt)

Autoren	Verdünnern	Beurteilungskriterien
	2) Vollmilch	frisch 65,9 % (273 Tiere besamt) 10-15°C 63,8 % (387 Tiere besamt) 0 - 5°C 35,0 % (160 Tiere besamt)
COLAS et al., 1968		Ablamrate nach ein- oder zwei- maliger Besamung täglich während gesamter Brunstdauer (125 · 10 ⁶ Spermien/0,2ml-Dosis)
	1) Magermilch-Penicillin- Streptomycin	76,0 % (242 Tiere besamt)
	2) Magermilch-Katalase- Penicillin-Streptomycin	74,6 % (206 Tiere besamt)
	3) EUE-Eidotter- Penicillin-Streptomycin	62,9 % (205 Tiere besamt)
	4) EUE-Eidotter- Katalase-Penicillin- Streptomycin	69,4 % (242 Tiere besamt)
JONES et al., 1969	Magermilch-Fruktose	Ablamrate nach einmaliger Insemination mit 36 Std. bei + 5°C gelagertem Sperma (1551 Tiere mit 50 · 10 ⁶ Sper- mien besamt) 26,2 %
SALAMON, 1971	Natriumziträt-Glukose- Eidotter	Ablamrate nach ein- oder zwei- maliger Besamung mit je 150-160 · 10 ⁶ motilen Spermien/0,1 ml- Dosis (276 Tiere besamt) 76,1 %

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
ENIWISTLE und MARTIN, 1972 b)	Glukose-Fruktose- NaCl-Phosphatpuffer- Penicillin-Streptomycin	Trächtigkeitsrate in Abhängig- keit von der Inseminationsdosis (50 bzw. $100 \cdot 10^6$ Spermien/ 0,05 bzw. 0,2 ml-Dosis) 48,7 -57,1 % (630 Tiere besamt)
LAPWOOD et al., 1972	1) Magermilchpulver- Fruktose-Penicillin- Dihydrostreptomycin- sulfat	Ablamrate ($50 \cdot 10^6$ Spermien; 179 Tiere besamt) 40,2 %
	2) Glukose-Fruktose- NaCl-Phosphatpuffer- Penicillin-Dihydro- streptomycinsulfat	Ablamrate ($50 \cdot 10^6$ Spermien; 170 Tiere besamt) 35,3 %
	3) Ribose-Fruktose-NaCl- Phosphatpuffer-Eidotter- Penicillin-Dihydrostrepto- mycinsulfat	Ablamrate nach einmaliger Insemination mit bei $+5^{\circ}\text{C}$ 24 Std. gelagertem Sperma ($100 \cdot 10^6$ Spermien; 283 Tiere besamt) 26,1 %
AMIR et al., 1973		Ablamrate (%) in Abhängig- keit vom Verdünnungsgrad des Spermas und der Besamungsdosis (Vol.)
	1) Natriumzitrats-Fruktose- Glycin-Eidotter	<u>Verd. 1 : 1</u> Vol. 0,1 ml Vol. 0,05 ml 51 % 50 % (53 Besamungen) (54 Besamungen)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
		<u>Verd. 1 : 10</u>
		Vol. 0,25 ml 31 % (48 Besamungen)
2)	Natriumzitat-Fruktose- Glycin-Katalase- Eidotter	<u>Verd. 1 : 1</u> Vol. 0,1 ml Vol. 0,05 ml 56 % 60 % (23 Besamungen) (25 Besamungen)
		<u>Verd. 1 : 10</u> Vol. 0,25 ml 23 % (17 Besamungen)
3)	Magermilch-Penicillin- Streptomycin-Sulfanil- amid	<u>Verd. 1 : 1</u> Vol. 0,1 ml Vol. 0,05 ml 67 % 65 % (45 Besamungen) (46 Besamungen)
		<u>Verd. 1 : 10</u> Vol. 0, 25 ml 56 % (46 Besamungen)
HUHOLD, 1973	Ziegenmilch (entrahmt)	Ablamrate ($> 60 \cdot 10^6$ vorwärtsbeweglicher Spermien/0,5 ml-Dosis) 65, 5 % (1097 Erstbesamungen)
SCHLEICHER und BRÜCKNER, 1973		Elektronenmikroskop. Beurtei- lung der Ultrastruktur nach verschiedener Lagerungsdauer des verdünnten Spermas bei $+ 4^{\circ} \text{C}$

Autoren	Verdünnung	Beurteilungskriterien
	1) Natriumzitrat-Glukose-Eidotter-Penicillin-Streptomycin	nach 12 Std.: - herdförmige Auftreibungen des Akrosoms - Aufhellungen der subakrosomalen Substanz
	2) Dextrose-Natriumzitrat- Na_2HPO_4 - KH_2PO_4 -Eidotter-Penicillin-Streptomycin	- Abhebung und lokale Einstülpung der äußeren Zellmembran nach 24 Std.: - starke Deformation der äußeren Membran - Aufhellung bis Auflösung des Akrosoms - starke allgemeine Auftreibung der Spermienköpfe
	3) Tris-Zitronensäure-Fruktose-Eidotter-Penicillin-Streptomycin	nach 72 Std.: - nur geringgradige Abhebung der äußeren Zellmembran - mäßige lokale Quellung des Akrosoms - überwiegend intakte Zellen
VISSER und SALAMON, 1973	Natriumzitrat-Glukose-Eidotter	Ablambrate nach ein- oder zweimaliger Insemination mit $85-95 \cdot 10^6$ motilen Spermien/0,1 ml-Dosis 65,7 % (70 Tiere besamt)
PAREEK et al., 1975	Natriumzitrat	GOT-Freisetzung. ($\mu\text{U}/10^9$ Spermien) während 1- u. 2-stündiger Inkubation des verdünnten Spermias bei + 37 bzw. + 5° C

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien		
		<u>+ 37° C</u>	<u>+ 5° C</u>	
		1 Std.	102,6	92,6
		2 Std.	115,8	147,0
KHARCHE et al., 1976		Morphologie des Spermienkopfes (Kopflänge und Kopfbreite) nach 0 und 72 stündiger Lagerung des Spermas in den versch. Ver- dünnern		
	1) Na-K-Phosphat-Eidotter	geringste Schrumpfung des Spermienkopfes		
	2) Natriumziträt-Eidotter	Schrumpfung des Spermienkopfes		
	3) Natriumziträt-Glukose- Eidotter			
	4) Glycin-Eidotter			
	5) Natriumziträt-Borsäure- Eidotter			
	6) Vollmilch			
	7) Borsäure-Natrium- bicarbonat-Eidotter			
PETRUZZI et al., 1976		Prozentsatz motiler Spermien nach mehrtägiger Lagerung des verdünnten Samens bei + 5° C		

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
		24 Std.	96 Std.
	1) Magermilchpulver	60,6 %	30,0 %
	2) Magermilch	56,3 %	41,7 %
	3) Magermilchpulver-Eidotter	60,3 %	44,4 %
	4) Magermilch-Eidotter	60,6 %	41,1 %
	5) Natriumzitrats-Eidotter	61,7 %	37,8 %
	6) Tris-Zitronensäure-Fruktose-Eidotter	66,9 %	54,6 %
WATSON und MARTIN, 1976 a	Glukose-Fruktose-NaCl-Phosphatpuffer-Penicillin-Streptomycin mit unterschiedl. Eidottergehalt	Non-Return-Rate (10^8 Spermien/0,1 ml-Dosis)	
	- 0,375 % Eidotter	58 %	(166 Tiere besamt)
	- 1,5 % Eidotter	50 %	(164 Tiere besamt)
	- 6,0 % Eidotter	42 %	(165 Tiere besamt)
WATSON und MARTIN, 1976 b	Glukose-Fruktose-NaCl-Phosphatpuffer-Penicillin-Streptomycin mit unterschiedl. Eidottergehalt	Non-Return-Rate	

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien																		
		- nach 1,5-stündiger Lagerung des verdünnten Spermas bei + 30° C																		
	- 1,5 % Eidotter	52,2 % (274 Tiere besamt)																		
	- 6,0 % Eidotter	44,4 % (282 Tiere besamt)																		
		- nach 24-stündiger Lagerung des verdünnten Spermas bei + 5° C																		
	- 1,5 % Eidotter	26,8 % (97 Tiere besamt)																		
	- 6,0 % Eidotter	17,0 % (100 Tiere besamt)																		
SALAMON, 1977	Natriumzitrat-Glukose- Eidotter	Ablamrate (102 · 10 ⁶ motile Spermien/ 0,1 ml-Dosis)																		
		65,2 % (92 Tiere besamt)																		
SALAMON et al., 1977	Tris-Zitronensäure- Fructose-Eidotter- Penicillin-Streptomycin	Prozentsatz befruchteter Ei- zellen nach intrazervikaler (i.zerv.) u. intrauteriner (i.ut.) Besamung (Laparotomie) mit frisch verdünntem sowie 2, 4, 6 u. 8 Tage altem Sper- ma (200 · 10 ⁶ Spermien/0,15 ml- Dosis)																		
		<table> <tr> <th></th><th>i.zerv.</th><th>i.ut.</th></tr> <tr> <td>frisch</td><td>62,5 %</td><td>95,5 %</td></tr> <tr> <td>2 Tage</td><td>40,0 %</td><td>94,4 %</td></tr> <tr> <td>4 Tage</td><td>0 %</td><td>91,3 %</td></tr> <tr> <td>6 Tage</td><td>-</td><td>75,0 %</td></tr> <tr> <td>8 Tage</td><td>-</td><td>52,9 %</td></tr> </table>		i.zerv.	i.ut.	frisch	62,5 %	95,5 %	2 Tage	40,0 %	94,4 %	4 Tage	0 %	91,3 %	6 Tage	-	75,0 %	8 Tage	-	52,9 %
	i.zerv.	i.ut.																		
frisch	62,5 %	95,5 %																		
2 Tage	40,0 %	94,4 %																		
4 Tage	0 %	91,3 %																		
6 Tage	-	75,0 %																		
8 Tage	-	52,9 %																		

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien																				
TIWARI et al., 1977	Vollmilch-Penicillin- Streptomycin	Prozentsatz motiler Spermien (Mot.), pH-Wert, Fruktose- konzentration (mg/100ml) u. Milchsäurekonzentration (mg/100ml) im verdünnten Sperma bei bis zu 24-stündiger Lage- rung bei + 5° C																				
		<table><tr><td></td><td>0</td><td>8</td><td>24 Std.</td></tr><tr><td>Mot.</td><td>88,0</td><td>68,4</td><td>50,0</td></tr><tr><td>pH-Wert</td><td>6,5</td><td>6,15</td><td>5,97</td></tr><tr><td>Fruktose</td><td>373,5</td><td>307,5</td><td>271,8</td></tr><tr><td>Milchsäure</td><td>23,1</td><td>39,3</td><td>51,2</td></tr></table>		0	8	24 Std.	Mot.	88,0	68,4	50,0	pH-Wert	6,5	6,15	5,97	Fruktose	373,5	307,5	271,8	Milchsäure	23,1	39,3	51,2
	0	8	24 Std.																			
Mot.	88,0	68,4	50,0																			
pH-Wert	6,5	6,15	5,97																			
Fruktose	373,5	307,5	271,8																			
Milchsäure	23,1	39,3	51,2																			
MENGER und BRÜCKNER, 1978	Natriumzitrat- Glukose-Eidotter	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien - nach 48-stündiger Lagerung bei + 5° C 30,0 - 35,1 % - nach mehrstündiger Inkubation bei + 39° C - 1 Std. 48,5 - 53,9 % - 3 Std. 53,1 - 57,1 % - 5 Std. 47,6 - 57,1 % Trächtigkeitsrate nach einmaliger Insemination mit 20 Std. altem Sperma (120-140 · 10 ⁶ motile Spermien/0,2 ml-Dosis) - ohne Erwärmung des Spermas (18 - 22 ° C) 67,6 % (119 Tiere besamt)																				

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
		- mit Erwärmung des Spermas auf + 32 bis + 35° C 70,9 % (166 Tiere besamt)
COLAS, 1979	Magermilch	Ablamtrate nach ein- oder zwei- maliger Insemination (500 · 10 ⁶ Spermien/Dosis) 65-70 %
LANGFORD et al., 1979	Magermilch-Natriumzitat	Trächtigkeitsrate (TR) und Ablamtrate (AR) nach Doppel- besamung von 59 Tieren mit 12 Std. bei + 16° C gelagertem Sperma (360 · 10 ⁶ Spermien/0,4 ml-Dosis) TR 83,0 % AR 78,0 %
SALAMON et al., 1979	Tris-Fruktose-Eidotter	Ablamtrate nach einmaliger Insemination mit frisch ver- dünntem oder mehrere Tage bei + 5° C gelagertem Sperma (300 · 10 ⁶ Spermien/0,2ml-Dosis) frisch 72,0 % (50 Tiere besamt) 1 Tag 52,0 % (50 Tiere besamt) 2 Tage 42,6 % (47 Tiere besamt) 3 Tage 30,0 % (50 Tiere besamt)

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
COLAS et al., 1980	1) Magermilch	Ablamtrate nach Insemination mit 5 Std. bei versch. Temperaturen gelagertem Sperma ($25-50 \cdot 10^6$ Spermien/0,25 ml-Dosis)
		- bei + 4° C 38,9 % (35 Tiere besamt)
		- bei + 15° C 75,0 % (35 Tiere besamt)
		Ablamtrate nach Insemination mit 24 Std. bei + 4° C gelagertem Sperma ($25 - 50 \cdot 10^6$ Spermien/0,25 ml-Dosis)
		31,0 % (87 Tiere besamt)
MAXWELL et al., 1980	2) Glukose-Natriumbicarbonat-BSA-Eidotter	48,7 % (80 Tiere besamt)
	3) Glukose-Natriumbicarbonat-BSA-Eidotter-Magermilch	
ÖZKOCA, 1980	1) Natriumzitrat-Eidotter	Ablamtrate nach Doppelbesamung mit je $200 \cdot 10^6$ Spermien/0,2 ml-Dosis
		82 % (53 Tiere besamt)
ÖZKOCA, 1980	1) Natriumzitrat-Eidotter	Ablamtrate nach Insemination mit 2 bis 3 Std. bei + 4 bis + 5° C gelagertem Sperma
		57,5 %

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
	2) Natriumzitrat-Glukose-Eidotter-Antibiotika	Konzeptionsrate nach Insemination mit 1,5 bis 2 Std. bei +4 bis +5°C gelagertem Sperma 67,1 - 81,2 %
	3) Magermilch	Konzeptionsrate nach Insemination mit 4 bis 6 Std. gelagertem Sperma 59,2 %
	4) IVT-Verdünner	Konzeptionsrate nach Insemination mit bis zu 3 Std. gelagertem Sperma 66,6 %
	5) CUE	Ablammrate nach Insemination mit 4 bis 6 Std. bei +4 bis +5°C gelagertem Sperma 47,8 %
SALAMON, 1980	Natriumzitrat-Glukose-Eidotter	Ablammrate nach einmaliger Insemination mit frisch verdünntem Sperma (300-340 · 10 ⁶ Spermien pro 0,2 ml-Dosis) 65,6 % (160 Tiere besamt)
ZLATAREV, 1980 a	Natriumzitrat-Eidotter	Befruchtungsrate nach Erstbesamung mit 24 Std. bei 0 bis +4°C in Minipailletten gelagertem Sperma (100 · 10 ⁶ Spermien/Dosis) 69,6 % (9882 Tiere besamt)

Autoren	Verdünnung	Beurteilungskriterien
ZLATAREV, 1980 b	Natriumzitrat-Eidotter	Prozentsatz motiler Spermien in mehrere Tage bei 0 bis +4°C in Minipailletten gela- gertem Sperma
		4 Std. 84,9 %
		24 Std. 80,8 %
		48 Std. 80,4 %
		72 Std. 73,1 %
		96 Std. 64,4 %
		120 Std. 61,5 %
		240 Std. 27,5 %
		Ablamtrate (100 · 10 ⁶ Spermien/Dosis)
		72,0 % (700 Tiere besamt)
LANGFORD und MARCUS, 1982	1) Magermilch-Natrium- zitrat	Ablamtrate bei versch. Sper- mienanzahl/Besamungsdosis
		400 · 10 ⁶ Spermien 69 % (29 Tiere besamt)
		200 · 10 ⁶ Spermien 77 % (30 Tiere besamt)
	2) Magermilch-Natrium- zitrat-Seminalplasma	400 · 10 ⁶ Spermien 62 % (29 Tiere besamt)
		200 · 10 ⁶ Spermien 63 % (27 Tiere besamt)

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien	
SORVISTO, 1983		Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien (V%) und Spermien mit normalem apikalem Rand (NAR%) nach Verdünnung und 1-, 2- und 3-tägiger Lagerung bei +5°C	
1) Tris-Zitronensäure-Fruktose-Eidotter		V (%)	NAR (%)
	n. Verd.	82,5	86,6
	n. 24 Std.	60,6	81,0
	n. 48 Std.	25,2	72,5
	n. 72 Std.	10,3	66,3
2) Magermilchpulver		V (%)	NAR (%)
	n. Verd.	83,5	85,3
	n. 24 Std.	56,9	76,4
	n. 48 Std.	16,2	67,2
	n. 72 Std.	5,2	58,2
3) Laktose-Eidotter		V (%)	NAR (%)
	n. Verd.	82,3	88,6
	n. 24 Std.	15,0	78,3
	n. 48 Std.	3,2	69,1
	n. 72 Std.	1,2	62,9
4) Glukose-Natriumzitat-ADTA-Natriumbicarbonat		V (%)	NAR (%)
	n. Verd.	80,0	89,1
	n. 24 Std.	6,0	82,8
	n. 48 Std.	1,9	76,6
	n. 72 Std.	1,0	68,2

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
LANGFORD, 1984	Magemilch-Natrium- ziträt	Ablamtrate nach Insemination mit bis zu 10 Std. bei +15°C gelagertem Sperma (450 · 10 ⁶ Spermien/0,5ml-Dosis) 34,3 % (193 Jungschafe) 67,0 % (141 Altschafe)
LILLO, 1984	Magemilch-Eidotter	Ablamtrate nach einmaliger In- semination mit frisch verdün- tem Sperma 80,9 % (697 Tiere besamt)
WALES et al. 1984		Ablamtrate nach einmaliger In- semination mit frisch verdün- tem Sperma (200 · 10 ⁶ motile Spermien/Dosis)
	1) Milchpulver	31 % (96 Tiere besamt)
	2) Krebs-Ringer-Phosphat- Glukose	37 % (103 Tiere besamt)
	3) Krebs-Ringer-Phosphat- Glukose-Formalin	43 % (107 Tiere besamt)
MAXWELL, 1986 a	Magemilch	Ablamtrate (100 · 10 ⁶ motile Spermien pro 0,1ml-Dosis) 47,5 % (59 Tiere besamt)

Anmerkung: Ablamtrate (%) = $\frac{\text{Zahl der lammenden Schafe}}{\text{Zahl der besamten Schafe}} \cdot 100$

2.7. Tiefgefrierkonservierung von Schafbocksperma

Gerade beim Tiefgefrieren von Schafbocksperma ist der Erfolg abhängig von der besten Kombination der einzelnen Verarbeitungsschritte wie Verdünnung, Abkühlgeschwindigkeit, Äquilibration, Glycerinkonzentration und Einfrierprozeß. Die optimale Kombination dieser Faktoren kann sich dabei von Ejakulat zu Ejakulat ganz erheblich unterscheiden (JONES, 1969 b).

Synthetische Verdünner mit Zusätzen von Eidotter und Glycerin sind im allgemeinen gut als Konservierungsmedien geeignet, schützen jedoch während des eigentlichen Tiefgefrierprozesses die Spermien weniger als biologische Verdünner, wie z.B. Magermilch.

In Form einer tabellarischen Übersicht sind im Folgenden verschiedene Tiefgefrierverdünner für Schafbocksperma sowie die zu ihrer Untersuchung herangezogenen Beurteilungskriterien und die erzielten Ergebnisse dargestellt.

Tab. 3: Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung von Schafbocksperma

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
FIRST et al., 1961	1) Milch-Arabinose- Glycerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen 15 %
		Ablamrate ($500 \cdot 10^6$ Spermien/ml)
		17 % (12 Tiere besamt)
	2) Milch-Arabinose- Eidotter-Glycerin- Penicillin-Strepto- mycin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen 38 %
		Ablamrate ($213 \cdot 10^6$ Spermien/ml)
		30 % (12 Tiere besamt)

Autoren	Verdünnung	Beurteilungskriterien
	3) Milch-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen
	4) Natriumzitat- Eidotter-Glyzerin	- n. 1 Woche 70 % - n. 4 Monaten 62 - 68 %
	5) Natriumzitat- Glukose-Eidotter- Glyzerin	

JONES, 1965

	Prozentsatz motiler Spermien (Mot.) und ungefärbter Sper- mien (Ungef.) nach dem Auftauen	
1) Magermilchpulver- Fructose-Glyzerin	Mot.	30,7 %
	Ungef.	42,9 %
2) Magermilchpulver- Fructose-DMSO	Mot.	4,1 %
	Ungef.	28,5 %
3) Magermilchpulver- Glyzerin	Mot.	55,6 %
	Ungef.	41,3 %
4) Natriumzitat-Phosphat- puffer-Fructose-Eidotter- Glyzerin	Mot.	47,5 %
	Ungef.	36,4 %
5) Laktose-Magermilch- NaCl-Phosphatpuffer- Fructose-Glyzerin	Mot.	51,9 %
	Ungef.	36,1 %
6) Fructose-Magermilch- NaCl-Phosphatpuffer- Glyzerin	Mot.	42,5 %
	Ungef.	47,5 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien																																										
ZELFEL und KAUTZ, 1965		Prozentsatz vorwärtsbewegl. Spermien nach mehrtägiger Lagerung des verdünnten Samens im CO ₂ -Eis-Alkoholbad bei -79°C <u>Aquilibration 25-28 Std.</u> <table><tr><td>1) Natriumzitrats-Eidotter-Glyzerin</td><td>1 Tag</td><td>9,4 %</td></tr><tr><td></td><td>3 Tage</td><td>11,9 %</td></tr><tr><td></td><td>6 Tage</td><td>8,5 %</td></tr><tr><td></td><td>12 Tage</td><td>6,8 %</td></tr><tr><td>2) Natriumzitrats-Fruktose-Eidotter-Glyzerin</td><td>1 Tag</td><td>10,8 %</td></tr><tr><td></td><td>3 Tage</td><td>14,2 %</td></tr><tr><td></td><td>6 Tage</td><td>10,6 %</td></tr><tr><td></td><td>12 Tage</td><td>9,8 %</td></tr></table> <u>Aquilibration 5 Std.</u> <table><tr><td>3) Natriumzitrats-Glukose-Eidotter-Glyzerin</td><td>1 Tag</td><td>21,9 %</td></tr><tr><td></td><td>2 Tage</td><td>21,1 %</td></tr><tr><td></td><td>3 Tage</td><td>20,4 %</td></tr><tr><td></td><td>5 Tage</td><td>18,4 %</td></tr><tr><td></td><td>8 Tage</td><td>19,4 %</td></tr><tr><td></td><td>15 Tage</td><td>18,0 %</td></tr></table>	1) Natriumzitrats-Eidotter-Glyzerin	1 Tag	9,4 %		3 Tage	11,9 %		6 Tage	8,5 %		12 Tage	6,8 %	2) Natriumzitrats-Fruktose-Eidotter-Glyzerin	1 Tag	10,8 %		3 Tage	14,2 %		6 Tage	10,6 %		12 Tage	9,8 %	3) Natriumzitrats-Glukose-Eidotter-Glyzerin	1 Tag	21,9 %		2 Tage	21,1 %		3 Tage	20,4 %		5 Tage	18,4 %		8 Tage	19,4 %		15 Tage	18,0 %
1) Natriumzitrats-Eidotter-Glyzerin	1 Tag	9,4 %																																										
	3 Tage	11,9 %																																										
	6 Tage	8,5 %																																										
	12 Tage	6,8 %																																										
2) Natriumzitrats-Fruktose-Eidotter-Glyzerin	1 Tag	10,8 %																																										
	3 Tage	14,2 %																																										
	6 Tage	10,6 %																																										
	12 Tage	9,8 %																																										
3) Natriumzitrats-Glukose-Eidotter-Glyzerin	1 Tag	21,9 %																																										
	2 Tage	21,1 %																																										
	3 Tage	20,4 %																																										
	5 Tage	18,4 %																																										
	8 Tage	19,4 %																																										
	15 Tage	18,0 %																																										
HESS et al., 1967	Glukose-Natriumzitrats-Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz vorwärtsbewegl. Spermien (Aquilibration 4 Std. bei +4°C) <table><tr><td>- vor Verdünnung</td><td>52,7 %</td></tr><tr><td>- nach Verdünnung</td><td>47,4 %</td></tr><tr><td>- vor Einfrieren</td><td>48,0 %</td></tr><tr><td>- nach Einfrieren</td><td>22,5 %</td></tr><tr><td>- nach 24 Std.</td><td>22,3 %</td></tr><tr><td>- nach 48 Std.</td><td>19,8 %</td></tr><tr><td>- nach 10 Tagen</td><td>20,3 %</td></tr><tr><td>- nach 20 Tagen</td><td>17,5 %</td></tr></table>	- vor Verdünnung	52,7 %	- nach Verdünnung	47,4 %	- vor Einfrieren	48,0 %	- nach Einfrieren	22,5 %	- nach 24 Std.	22,3 %	- nach 48 Std.	19,8 %	- nach 10 Tagen	20,3 %	- nach 20 Tagen	17,5 %																										
- vor Verdünnung	52,7 %																																											
- nach Verdünnung	47,4 %																																											
- vor Einfrieren	48,0 %																																											
- nach Einfrieren	22,5 %																																											
- nach 24 Std.	22,3 %																																											
- nach 48 Std.	19,8 %																																											
- nach 10 Tagen	20,3 %																																											
- nach 20 Tagen	17,5 %																																											

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
SALAMON und LIGHTFOOT, 1967	Raffinose-Natrium- zitrats-Eidotter- Glyzerin	Prozentsatz befruchteter Eizellen nach intrazervikaler ($120 \cdot 10^6$ motile Spermien pro 0,3ml-Dosis) bzw. intrauteriner Besamung ($40 \cdot 10^6$ motile Spermien/0,1ml-Dosis) mittels Laparotomie intrazervikal 25 % (20 Tiere besamt) intrauterin 88 % (17 Tiere besamt) Non-Return-Rate (s.o.) intrazervikal 15 % (67 Tiere besamt) intrauterin 34 % (68 Tiere besamt)
FRASER, 1968	Laktose-Eidotter- Glyzerin	Ablamtrate - nach Erstbesamung 31 % (39 Tiere besamt) - nach Zweitbesamung 56 % (34 Tiere besamt) - nach Drittbesamung 80 % (30 Tiere besamt)
LUNCA, 1968		Befruchtungsrate nach einmaliger Insemination ($50 \cdot 10^6$ Spermien/0,1ml-Dosis) 1) Natriumzitrats-Fruktose-Eidotter-Glyzerin-Dihydrostreptomycin 45 % (45 Tiere besamt)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
	2) Magermilch-Eidotter- Glycerin-Dihydrostrep- tomycin	Befruchtungsrate (s.o.) 44 % (48 Tiere besamt)
JONES, 1969 b		Prozentsatz motiler Spermien (Mot.) und ungefärbter Sper- mien (Ungef.) nach dem Auf- tauen
	1) Magermilch-Glyzerin	Mot. 27,5 % Ungef. 37,2 %
	2) Laktose-Magermilch- Fruktose-NaCl-KCl- Phosphatpuffer-Glyzerin	Mot. 13,5 % Ungef. 32,5 %
COLAS und BRICE, 1970	Laktose-Eidotter- Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen 35 - 58 % Non-Return-Rate nach Doppel- besamung ($190 \cdot 10^6$ Spermien) 52 - 68 % (50 Tiere besamt)
LIGHTFOOT und SALAMON, 1970	Raffinose-Natriumzitat- Eidotter-Glyzerin	Ablamtrate nach intrazervikaler und intrauteriner Insemination mittels Laparotomie ($160 \cdot 10^6$ motile Spermien pro 0,1ml-Dosis) intrazervikal 50,0 % (40 Tiere besamt) intrauterin 40,0 % (30 Tiere besamt)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
SALAMON, 1970		Prozentsatz motiler Spermien bei 6-stündiger Inkubation des aufgetauten Spermas bei +37°C
	1) Fruktose-Eidotter-Glyzerin	26,6 %
	2) Glukose-Eidotter-Glyzerin	33,0 %
	3) Laktose-Eidotter-Glyzerin	34,9 %
	4) Raffinose-Eidotter-Glyzerin	34,6 %
	5) Raffinose-Natriumzitat-Eidotter-Glyzerin	34,2 %
SALAMON, 1971	Raffinose-Natriumzitat-Eidotter-Glyzerin	Ablammrate nach zweimaliger Insemination (150 - 160 · 10 ⁶ Spermien pro 0,1ml-Dosis) 53,1 % (318 Tiere besamt)
SALAMON und BRANDON, 1971	Raffinose-Natriumzitat-Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen in Abhängigkeit von der Auftaulösung 24,7 - 46,6 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
DZIUK et al., 1972	Tes-Tris-Fruktose- Eidotter-Glyzerin	Ablamtrate (56 Tiere besamt) - nach Erstbesamung 13 % - nach Zweitbesamung 80 %
ENTWISTLE und MARTIN, 1972	Glukose-NaCl-KCl- Phosphatpuffer-Fruktose- Eidotter-Glyzerin-Penicillin- Streptomycin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen 42,8 %
SALAMON und VISSER, 1972	1) Raffinose-Natriumziträt- Eidotter-Glyzerin 2) Tris-Zitronensäure- Glukose-Eidotter- Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien im Verlauf einer 6-stündigen Inkubation bei +37°C 37,3 % 42,4 %
ANDERSEN et al., 1973	Tris-Zitronensäure- Fruktose-Eidotter- Glyzerin	Konzeptionsrate nach einmaliger Insemination (150 · 10 ⁶ Spermien/O,3ml-Dosis) - nach Brunstsynchronisation - intrazervikal 29 % (24 Tiere besamt) - intrauterin 54 % (53 Tiere besamt) - ohne Brunstsynchronisation - intrazervikal 45 % (60 Tiere besamt) - intrauterin 89 % (83 Tiere besamt)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
KOUTSOURIS und VAUPEL, 1973	1) Tris-Zitronensäure- Fructose-Eidotter- Glycerin	Prozentsatz vorwärtsbewegl. Spermien nach Verdünnung vor Einfrieren nach Auftauen	79,4 % 76,9 % 53,0 %
	2) Raffinose-Eidotter- Glycerin	nach Verdünnung vor Einfrieren nach Auftauen	79,3 % 76,5 % 52,7 %
VISSEr und SALAMON, 1973		Ablamtrate nach zweimaliger Insemination ($85-95 \cdot 10^6$ motile Spermien pro 0,1ml-Dosis)	
	1) Tris-Glukose- Eidotter-Glycerin	57,1 % (35 Tiere besamt)	
	2) Raffinose-Natrium- zitat-Eidotter- Glycerin	54,5 % (33 Tiere besamt)	
WATSON und MARTIN, 1973	Glukose-Fructose-NaCl- Phosphatpuffer-Eidotter- Glycerin-Penicillin- Dihydrostreptomycin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen von 72 Std. bei -196°C gelagertem Sperma	30,0 %
VISSEr und SALAMON, 1974	Tris-Zitronensäure- Glukose-Eidotter- Glycerin	Ablamtrate nach zweimaliger Insemination (je $150 \cdot 10^6$ motile Spermien pro 0,1ml-Dosis)	56,1 % (66 Tiere besamt)

Autoren	Verdünnner	Beurteilungskriterien
COLAS, 1975		Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen (Mot.-Auft.) und nach 3-stündiger Inkubation bei +37 bis +38°C (Mot.-3Std.) sowie Konzeptionsrate (KR) nach Doppelbesamung (180 · 10 ⁶ motile Spermien pro 0,45ml-Dosis)
	1) Laktose-Eidotter-Glyzerin	Mot.-Auft. 46,7 %
		Mot.-3Std. 33,0 %
		KR (45 Tiere besamt) 42,2 %
	2) I.N.R.A.-Verdünnner (auf der Basis von Magermilch)	Mot.-Auft. 42,7 %
		Mot.-3Std. 37,0 %
		KR (34 Tiere besamt)
GUSTAFSSON et al., 1975	TES-NaK ₂ -Eidotter-Glyzerin	Ablamtrate nach zweimaliger Insemination (250 · 10 ⁶ Spermien/0,25ml-Dosis)
	- ohne PGF 2 alpha	30 % (10 Tiere besamt)
	- mit PGF 2 alpha	70 % (10 Tiere besamt)
ROYCHODHURY et al., 1975		Prozentsatz motiler Spermien (Mot%) und GOT-Aktivität (in mU/10 ⁹ Spermien) bei unterschiedlichem Glyzeringehalt des Verdünners sowie ohne Adaptation (o.Adapt.) bzw. mit Adaptation (Adapt.) des verdünnten Spermas

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
	1) Laktose-Eidotter- 3,5% Glycerin	<u>o.Adapt.</u>	<u>Adapt.</u>
		Mot%	40
		GOT	332,57
	2) Laktose-Eidotter- 5% Glycerin	<u>o.Adapt.</u>	<u>Adapt.</u>
		Mot%	47
		GOT	322,85
WATSON und MARTIN, 1975 a	Glukose-Fruktose- NaCl-KCl-Phosphat- puffer-Eidotter- Glycerin-Penicillin- Dihydrostreptomycin	Durchschnittlicher Prozent- satz motiler Spermien nach dem Auftauen bei Eidotter- konzentrationen im Verdüner von 3 bis 12 %	
			27,4 %
BAUER und LIEBENBERG, 1976		Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen und im 3-stündigen Thermo-resistenz- test bei + 40°C	
	1) Tris-Zitronensäure- Fruktose-Eidotter- Glycerin	nach Auftauen	37 %
		nach 1,5 Std.	29 %
		nach 3 Std.	21 %
	2) Laktose-Eidotter- Glycerin	nach Auftauen	35 %
		nach 1,5 Std.	12 %
		nach 3 Std.	5 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
	3) Tris-Zitronensäure- Fructose-Eidotter- Glycerin in unterschiedl. Konzentration	Non-Return-Rate
	- 2,5 % Glycerin	57,1 % (56 Tiere besamt)
	- 6,0 % Glycerin	70,7 % (41 Tiere besamt)
	4) Tris-Zitronensäure- Fructose-Eidotter- 3% Glycerin	Non-Return-Rate (Äquilibrierungszeit 2 und 6 Std.)
		2 Std. 60,0 % (10 Tiere bes.)
		6 Std. 68,0 % (50 Tiere bes.)
FUKUI und ROBERTS, 1976	Tris-Zitronensäure- Glukose-Eidotter- Glycerin	Non-Return-Rate nach intra- zervikaler od. intrauteriner Besamung ($312 \cdot 10^6$ motile Spermien pro 0,3ml-Dosis)
		intrazervikal 44,6 % (74 Tiere besamt)
		intrauterin 69,1 % (55 Tiere besamt)
FUKUI und ROBERTS, 1977	Tris-Zitronensäure- Glukose-Eidotter- Glycerin	Ablamtrate nach zweimaliger Insemination in Abhängigkeit von Technik der Brunstsynchroni- sation und dem Besamungszeit- punkt ($140 \cdot 10^6$ motile Spermien pro 0,2ml-Dosis)
		22,0 - 38,9 % (204 Tiere bes.)

Autoren	Verdünnern	Beurteilungskriterien
ROYCHODHURY und BHAMBHANI, 1977	Laktose-Eidotter- Glyzerin mit unterschiedl. Laktose- u. Glyzerin- gehalt	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen von 7 Tage in flüssigem Stickstoff gela- gertem Sperma
	1) 9% Laktose- 3,5% Glyzerin	26,9 %
	2) 9% Laktose- 5% Glyzerin	39,0 %
	3) 11% Laktose- 3,5% Glyzerin	30,6 %
	4) 11% Laktose- 5% Glyzerin	49,3 %
SALAMON, 1977	Tris-Zitronensäure- Glukose-Eidotter- Glyzerin	Durchschnittliche Ablamtrate nach Einfach- od. Doppelbesa- mung mit unterschiedl. Anzahl motiler Spermien/0,15ml-Dosis
		$90 \cdot 10^6$ 32,6 % (89 Tiere besamt)
		$180 \cdot 10^6$ 47,7 % (88 Tiere besamt)
		$360 \cdot 10^6$ 55,7 % (88 Tiere besamt)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien		
TASSERON et al., 1977	Raffinose-Natriumzitrat- Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz Spermien mit geschädigtem Akrosom im Licht (L)-und Elektronen- mikroskop (E)		
			<u>L</u>	<u>E</u>
		n.Verdünnung	24,8	30,2
		n.Abkühlung	33,6	40,5
		n.Auftauen	39,8	68,1
FISER, 1979		Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen und nach 1-stündiger Inkubation bei + 40° C		
	1) Dextran-Natriumzitrat- TES-Glycin-Laktose- Raffinose-Fruktose- Zitronensäure-Glyzerin- Penicillin	nach Auftauen nach Inkubation	57,5 % 38,8 %	
	2) Stärke-Natriumzitrat- TES-Glycin-Laktose- Raffinose-Fruktose- Zitronensäure-Glyzerin- Penicillin	nach Auftauen nach Inkubation	55,0 % 36,2 %	
LANGFORD et al., 1979	Laktose-Magermilch- Natriumzitrat-Eidotter- Glyzerin	Ablamtrate nach zweimaliger Insemination (360 · 10 ⁶ Spermien/0,4 ml-Dosis)		
		43 % (65 Tiere besamt)		

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien																																				
GÜNZEL et al., 1980	Tris-Zitronensäure- Fructose-Eidotter- Glycerin	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien (V %) und Spermien mit normalem Akrosom (NA %) nach dem Auftauen und nach 2 und 4 Std. im Thermoresistenztest bei + 38° C Zentrifugation nach Äquilibration <table> <tr> <th></th><th>V %</th><th>NA %</th></tr> <tr> <td>n.Auft.</td><td>64</td><td>69</td></tr> <tr> <td>2 Std.</td><td>50</td><td>44</td></tr> <tr> <td>4 Std.</td><td>33</td><td>38</td></tr> </table> keine Zentrifugation <table> <tr> <th></th><th>V %</th><th>NA %</th></tr> <tr> <td>n.Auft.</td><td>52</td><td>79</td></tr> <tr> <td>2 Std.</td><td>42</td><td>42</td></tr> <tr> <td>4 Std.</td><td>29</td><td>37</td></tr> </table> Zentrifugation vor Äquilibration <table> <tr> <th></th><th>V %</th><th>NA %</th></tr> <tr> <td>n.Auft.</td><td>52</td><td>68</td></tr> <tr> <td>2 Std.</td><td>40</td><td>40</td></tr> <tr> <td>4 Std.</td><td>24</td><td>33</td></tr> </table>		V %	NA %	n.Auft.	64	69	2 Std.	50	44	4 Std.	33	38		V %	NA %	n.Auft.	52	79	2 Std.	42	42	4 Std.	29	37		V %	NA %	n.Auft.	52	68	2 Std.	40	40	4 Std.	24	33
	V %	NA %																																				
n.Auft.	64	69																																				
2 Std.	50	44																																				
4 Std.	33	38																																				
	V %	NA %																																				
n.Auft.	52	79																																				
2 Std.	42	42																																				
4 Std.	29	37																																				
	V %	NA %																																				
n.Auft.	52	68																																				
2 Std.	40	40																																				
4 Std.	24	33																																				
MAXWELL et al., 1980	Tris-Zitronensäure- Glukose-Eidotter- Glycerin	Ablamtrate nach Doppelbesamung mit Pellets ($200 \cdot 10^6$ Spermien/0,2 ml-Dosis) bzw. Pailletten ($450 \cdot 10^6$ Spermien/0,5 ml-Dosis)																																				

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien									
		Pellets 54 % (110 Tiere besamt) Pailletten 29 % (31 Tiere besamt)									
NEVES, 1980	Tris-Zitronensäure- Fructose-Eidotter	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien (V %) und Spermien mit normalem Akrosom (NA %) nach dem Auftauen und nach 4-stündiger Inkubation bei + 38° C									
	- 4 % Glycerin	<table> <tr> <td></td><td>V %</td><td>NA %</td></tr> <tr> <td>n.Auftauen</td><td>57,2</td><td>64,8</td></tr> <tr> <td>n.Inkubation</td><td>30,3</td><td>32,8</td></tr> </table>		V %	NA %	n.Auftauen	57,2	64,8	n.Inkubation	30,3	32,8
	V %	NA %									
n.Auftauen	57,2	64,8									
n.Inkubation	30,3	32,8									
	- 8 % Glycerin	<table> <tr> <td></td><td>V %</td><td>NA %</td></tr> <tr> <td>n.Auftauen</td><td>57,7</td><td>55,2</td></tr> <tr> <td>n.Inkubation</td><td>26,5</td><td>24,6</td></tr> </table>		V %	NA %	n.Auftauen	57,7	55,2	n.Inkubation	26,5	24,6
	V %	NA %									
n.Auftauen	57,7	55,2									
n.Inkubation	26,5	24,6									
		Durchschnittliche Ablamtrate in Abhängigkeit von Anzahl vorwärtsbeweglicher Spermien sowie Volumen der Inseminationsdosis									
		16,4 % (164 Tiere besamt)									
OLAFSSON, 1980		Trächtigkeitsrate nach Doppelbesamung (200-230 · 10 ⁶ Spermien/Dosis)									
	1) Tris-Zitronensäure- Fructose-Eidotter- Glycerin	46,6 % (58 Tiere besamt)									

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien																		
	2) Milch-Glyzerin	44,2 % (52 Tiere besamt)																		
SALAMON, 1980	Raffinose-Natriumzitat- Eidotter-Glyzerin	Ablamtrate nach einmaliger Insemination mit 11 Jahre altem tiefgefrorenem Sperma (300-340 · 10 ⁶ motile Sper- mien/0,2 ml-Dosis)																		
		55,3 % (159 Tiere besamt)																		
VIVANCO und VALERA, 1980	Tris-Verdüner mit Glukose oder Fruktose und verschie- denen Einfrier- und Konfektio- nierungsverfahren	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen 29,0 - 48,0 %																		
FISER et al., 1981	Laktose-Magermilch- Eidotter-Glyzerin mit unterschiedl. Osmolalität	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen (30 sec im Wasserbad von + 39 ^o C) und nach 60-minütiger Inkubation bei + 39 ^o C																		
		<table> <tr> <th></th><th>n.Auftauen</th><th>n.Inkubation</th></tr> <tr> <td>280 mOsm/kg</td><td>12 %</td><td>9 %</td></tr> <tr> <td>330 mOsm/kg</td><td>25 %</td><td>20 %</td></tr> <tr> <td>400 mOsm/kg</td><td>42 %</td><td>36 %</td></tr> <tr> <td>510 mOsm/kg</td><td>49 %</td><td>39 %</td></tr> <tr> <td>560 mOsm/kg</td><td>52 %</td><td>37 %</td></tr> </table>		n.Auftauen	n.Inkubation	280 mOsm/kg	12 %	9 %	330 mOsm/kg	25 %	20 %	400 mOsm/kg	42 %	36 %	510 mOsm/kg	49 %	39 %	560 mOsm/kg	52 %	37 %
	n.Auftauen	n.Inkubation																		
280 mOsm/kg	12 %	9 %																		
330 mOsm/kg	25 %	20 %																		
400 mOsm/kg	42 %	36 %																		
510 mOsm/kg	49 %	39 %																		
560 mOsm/kg	52 %	37 %																		

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
	Verd. mit 510 mOsm/kg	Trächtigkeitsrate nach Doppelbesamung ($320 \cdot 10^6$ motile Spermien/0,5 ml-Dosis)	
		67,5 % (40 Tiere besamt)	
FISER et al., 1982	1) Laktose-Dextran- Natriumzitat-TES- Glyzin-Raffinose- Fruktose-Eidotter- Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen und im 60-minütigen Thermo-resistenztest bei + 39° C	
		n.Auftauen	60 min.
	- isoton	32,0 %	27,2 %
	- hyperton	43,8 %	35,0 %
	2) Dextran-Natriumzitat-TES-Glyzin-Raffinose-Fruktose-Glyzerin		
		n.Auftauen	60 min.
	- isoton	28,0 %	25,3 %
	- hyperton	41,6 %	34,7 %
MATTOS, 1982	Tris-Zitronensäure-Fruktose-Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien (V %) und Spermien mit normalem Akrosom (NA %) nach dem Auftauen (Glyzerinzusatz bei + 5° C bzw. + 22° C)	

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien		
			+ 5° C	+ 22° C
V %		55,0		55,3
NA %		64,1		64,8
Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien (V %) und Spermien mit normalem Akrosom (NA %) nach dem Auftauen und in einem 4-stündigen Thermoresistenztest bei + 38° C (ohne Zentrifugation sowie mit Zentrifugation des Spermas bei + 5 bzw. + 22° C)				
V %:		<u>o. Z.</u>	<u>Z+5° C</u>	<u>Z+22° C</u>
n. Auftauen		53,0	63,5	52,3
n. 4 Std.		29,7	34,5	24,0
NA %:		<u>o. Z.</u>	<u>Z+5° C</u>	<u>Z+22° C</u>
n. Auftauen		74,1	69,6	68,5
n. 4 Std.		37,6	38,3	33,7
Ablamtrate in Abhängigkeit von Glyzerinkonzentration, Temperatur bei Glyzerinzusatz, Zentrifugation sowie Auftauverfahren (140-160 · 10⁶ Spermien/0,2 ml-Dosis)				
18,0 - 33,1 % (1025 Tiere besamt)				

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
NEUBEPT et al., 1982	Natriumzitrats-Fruktose- Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien - in Erstejakulaten - n. Auftauen 31,1 % - n. 4 Std. - Thermoresistenztest 20,9 % - in Zweitejakulaten - n. Auftauen 35,4 % - n. 4 Std. 24,2 % Trächtigkeitsrate ($180 \cdot 10^6$ Spermien/0,3 ml-Dosis) 21,3 % (80 Tiere besamt)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
TEKIN, 1982		Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien (V %) und Spermien mit normalem akrosomalen Rand (NAR %) nach dem Auftauen und nach einer 4-stündigen Inkubation bei + 38° C	
		Non-Return-Rate und Ablamtrate nach Besamung von je 50 Tieren	
	1) Tris-Zitronensäure-Fruktose-Eidotter-Glyzerin	V %	NAR %
		n.Auftauen	54,8 77,6
		n.Inkubation	27,2 55,3
		Non-Return-Rate	12,0 %
		Ablamtrate	6,0 %
	2) Tes-Tris-Fruktose-Magermilch-Eidotter-Glyzerin	V %	NAR %
		n.Auftauen	55,0 77,1
		n.Inkubation	19,0 54,6
		Non-Return-Rate	10,0 %
		Ablamtrate	6,0 %
	3) Tes-Tris-Fruktose-Magermilch-Orvus Es Paste-Eidotter-Glyzerin	V %	NAR %
		n.Auftauen	58,0 80,3
		n.Inkubation	33,5 62,2
		Non-Return-Rate	14,0 %
		Ablamtrate	6,0 %
FISER und FAIRFULL, 1983	Laktose-Magermilch-Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen in Abhängigkeit von der Jahreszeit	

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
		höchster Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen von 43 bis 48 % in den Monaten Juli bis Dezember
ARMSTRONG und EVANS, 1984	Tris-Zitronensäure- Glukose-Eidotter- Glyzerin	Prozentsatz befruchteter Eizellen nach einmaliger intrazervikaler ($200 \cdot 10^6$ Spermien/0,2 ml-Dosis) oder per Laparotomie intrauteriner Besamung ($100 \cdot 10^6$ Spermien/0,05 ml-Dosis) intrazervikal 10,1 % (11 Tiere besamt) intrauterin 54,9 % (11 Tiere besamt)
FISER und BATRA, 1984	Magermilch-Laktose- Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen in Abhängigkeit von der Tageslichtlänge (Adaptationsdauer 2 - 6 Std.) 32,8 - 40,6 %
GRÖTTE, 1984	Magermilch-Glyzerin	Non-Return-Rate im Durchschnitt aller Besamungen ($250 \cdot 10^6$ Spermien/Dosis) 60 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
LILLO, 1984	Magermilch-Fruktose- Eidotter-Glyzerin	Ablamtrate nach einmaliger Insemination ($200 \cdot 10^6$ Spermien/0,2 ml- Dosis) 51,5 % (1037 Besamungen)
COCHRAN et al., 1985	Natriumzitrat-Eidotter- Glyzerin-Penicillin- Dihydrostreptomycin	Prozentsatz motiler Spermien vor dem Einfrieren und nach dem Auftauen in Abhängigkeit von der Rasse (Spermagewinnung mittels Elektroejakulation) vor Einfrieren 53,8 - 68,3 % nach Auftauen 18,1 - 27,7 %
SEVINÇ et al., 1985	Laiciphos Tris-Verdüner	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen 31,9 % 42,2 %
FISER et al., 1986	Laktose-Magermilch- Eidotter-Glyzerin- Penicillin-Streptomycin	Prozentsatz vorwärtsbeweg- licher Spermien nach Auftauen im Wasserbad bei verschiedenen Temperaturen $40^{\circ}\text{C}/30\text{sec}$ 40 % $60^{\circ}\text{C}/8\text{sec}$ 50 % $80^{\circ}\text{C}/5\text{sec}$ 52 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien								
		Prozentsatz Spermien mit intaktem Akrosom nach Auf- tauen im Wasserbad bei verschie- denen Temperaturen								
		<table><tr><td><u>40°C/30sec</u></td><td><u>60°C/8sec</u></td><td><u>80°C/5sec</u></td></tr><tr><td>58 %</td><td>60 %</td><td>68 %</td></tr></table>	<u>40°C/30sec</u>	<u>60°C/8sec</u>	<u>80°C/5sec</u>	58 %	60 %	68 %		
<u>40°C/30sec</u>	<u>60°C/8sec</u>	<u>80°C/5sec</u>								
58 %	60 %	68 %								
MAXWELL, 1986 a	Tris-Zitronensäure- Glukose-Eidotter- Glyzerin	Ablamtrate bei intrauteriner Besamung mittels Laparoskopie nach unterschiedl. durchgeführ- ter Brunstsynchronisation ($20 \cdot 10^6$ motile Spermien/0,04 ml- Dosis) 39,3 - 57,4 % (394 Tiere besamt)								
MAXWELL, 1986 b	Tris-Zitronensäure- Glukose-Eidotter- Glyzerin	Ablamtrate bei intrauteriner Besamung (Laparoskopie) mit unterschiedlicher Besamungsdosis <table><tr><td>$0,5 \cdot 10^6$ motile Spermien (75 Besamungen)</td><td>29,3 %</td></tr><tr><td>$5 \cdot 10^6$ motile Spermien (79 Besamungen)</td><td>26,8 %</td></tr><tr><td>$25 \cdot 10^6$ motile Spermien (87 Besamungen)</td><td>56,3 %</td></tr><tr><td>$50 \cdot 10^6$ motile Spermien (103 Besamungen)</td><td>62,1 %</td></tr></table>	$0,5 \cdot 10^6$ motile Spermien (75 Besamungen)	29,3 %	$5 \cdot 10^6$ motile Spermien (79 Besamungen)	26,8 %	$25 \cdot 10^6$ motile Spermien (87 Besamungen)	56,3 %	$50 \cdot 10^6$ motile Spermien (103 Besamungen)	62,1 %
$0,5 \cdot 10^6$ motile Spermien (75 Besamungen)	29,3 %									
$5 \cdot 10^6$ motile Spermien (79 Besamungen)	26,8 %									
$25 \cdot 10^6$ motile Spermien (87 Besamungen)	56,3 %									
$50 \cdot 10^6$ motile Spermien (103 Besamungen)	62,1 %									

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
		Ablamtrate bei intrauteriner Besamung (Laparoskopie) in ein Uterushorn oder in beide Hörner $(20 \cdot 10^6$ motile Spermien/0,04 ml-Dosis)
		1 Horn 44,9 % (75 Besamungen)
		2 Hörner 76,8 % (69 Besamungen)
		Ablamtrate bei intrauteriner Besamung (Laparoskopie) in Abhängigkeit vom Ort der Spermadeponierung in beiden Uterushörnern $(10 \cdot 10^6$ motile Spermien/0,02 ml-Dosis/Horn)
		Hornspitze 43,6 % (55 Besamungen)
		Hornmitte 52,8 % (53 Besamungen)
		Nähe Bifurkation 41,2 % (51 Besamungen)

Anmerkung: Ablamtrate (%) = $\frac{\text{Zahl der lammenden Schafe}}{\text{Zahl der besamten Schafe}} \cdot 100$

2.8. Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht verschiedener Flüssigverdünner für Ziegenbocksperma sowie der bei deren Erprobung angewandten Beurteilungskriterien.

Tab. 4: Verdünner zur Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
WAGNER, 1949	1) Glukose-Phosphat-Verd. f. Rindersperma mit Eidotter in unterschiedl. Konzentration	Lebensdauer der Spermien in Stunden (Prozentsatz vorwärts- beweglicher und ortsbeweglicher Spermien)
	2) Glukose-Phosphat-Verd. f. Ziegensperma mit Eidotter in unterschiedl. Konzentration	
	<u>bester Verdünner:</u> Glukose-Phosphat-Verd. f. Ziegensperma mit 2-5 % Eidotter	Lebensdauer der Spermien bis zu 274 Std.
SCHMIDT et al., 1950	1) Physiologische Koch- salzlösung	Trächtigkeitsrate 92,4 % (252 Besamungen)
	2) Glukose-Phosphat	
HAMPEL, 1951	Natriumzitrat in versch. Konzentrationen ohne oder mit Eidotter in unter- schiedl. Konzentration	Volle Befruchtungsfähigkeit in Stunden (v.B.; $\hat{=}$ Zeit, während der mind. 70 % der Spermien Vorwärtsbewegung zeigen)

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
		Äußerste Befruchtungsfähigkeit in Stunden (ä.B.; $\hat{=}$ Zeit, innerhalb der der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien mind. 25 % beträgt)
		Äußerste Lebensdauer in Stunden (ä.L.; $\hat{=}$ Zeit, bei der die letzten Einzel-Ortsbewegungen nachgewiesen werden)
	<u>beste Verdüner:</u>	
	3,5 % Natriumziträt-	<u>v.B.</u> <u>ä.B.</u> <u>ä.L.</u> (Std.)
	5,0 % Eidotter	106 154 236

EUFMANN, 1952	1) Natriumziträt in versch. Konzentration ohne oder mit unterschiedl. Eidottergehalt	Volle Befruchtungsfähigkeit in Stunden (v.B.)
		Äußerste Befruchtungsfähigkeit in Stunden (ä.B.)
	2) Glukose-Phosphat ohne oder mit unterschiedl. Eidottergehalt	Äußerste Lebensdauer in Stunden (ä.L.)
	<u>beste Verdüner:</u>	
a)	3,5 % Natriumziträt-	<u>v.B.</u> <u>ä.B.</u> <u>ä.L.</u> (Std.)
	5,0 % Eidotter	72 216 264
b)	Glukose-Phosphat	<u>v.B.</u> <u>ä.B.</u> <u>ä.L.</u> (Std.)
		24 72 120
c)	Glukose-Phosphat-	<u>v.B.</u> <u>ä.B.</u> <u>ä.L.</u> (Std.)
	5 % Eidotter	48 120 168

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
	d) 4,5 % Natriumzitrat	Trächtigkeitsrate (49 Besamungen)	77,5 %
	e) 4,5 % Natriumzitrat- 5,0 % Eidotter	Trächtigkeitsrate (49 Besamungen)	77,5 %
	f) 3,5 % Natriumzitrat	Trächtigkeitsrate (147 Besamungen)	78,2 %
	g) 3,5 % Natriumzitrat- 5,0 % Eidotter	Trächtigkeitsrate (123 Besamungen)	78,9 %
	h) Glukose-Phosphat	Trächtigkeitsrate (48 Besamungen)	75,0 %
AEHNELT und ROSENWINKEL, 1953	1) Spermasol-Eidotter	Trächtigkeitsrate (102 Erstbesamungen)	97,1 %
	2) Diloften	Trächtigkeitsrate (94 Erstbesamungen)	82,9 %
	3) Diloften-Eidotter	Trächtigkeitsrate (106 Erstbesamungen)	83,0 %
	4) Natriumzitrat-Eidotter	Trächtigkeitsrate (62 Erstbesamungen)	83,1 %
ROSENWINKEL, 1953	1) Natriumzitrat in versch. Konzentration ohne oder mit unterschiedlichem Eidottergehalt	Volle Befruchtungsfähigkeit in Stunden (v.B.) Äußerste Befruchtungsfähigkeit in Stunden (ä.B.)	

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien			
	2) Spermasol ohne oder mit unterschiedlichem Eidottergehalt	Äußerste Lebensdauer in Stunden (ä.L.)			
	3) Dilothen ohne oder mit unterschiedlichem Eidottergehalt				
	<u>beste Verdüner:</u>				
a)	4 % Natriumzitat- 5 % Eidotter	<u>v.B.</u>	<u>ä.B.</u>	<u>ä.L.</u>	(Std.)
		72	182	240	
		Trächtigkeitsrate		93,6 %	
		(111 Erstbesamungen)			
b)	4 % Natriumzitat	<u>v.B.</u>	<u>ä.B.</u>	<u>ä.L.</u>	(Std.)
		48	132	192	
		Trächtigkeitsrate		82,0 %	
		(100 Erstbesamungen)			
c)	Spermasol-3 % Eidotter	<u>v.B.</u>	<u>ä.B.</u>	<u>ä.L.</u>	(Std.)
		129	254	302	
		Trächtigkeitsrate		97,1 %	
		(102 Erstbesamungen)			
d)	Spermasol	<u>v.B.</u>	<u>ä.B.</u>	<u>ä.L.</u>	(Std.)
		86	216 *	259	
		Trächtigkeitsrate		95,6 %	
		(92 Erstbesamungen)			
e)	Dilothen-5 % Eidotter	<u>v.B.</u>	<u>ä.B.</u>	<u>ä.L.</u>	(Std.)
		72	201	264	
		Trächtigkeitsrate			
		(106 Erstbesamungen)			

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien			
	f) Dilothen	v.B.	ä.B.	ä.L.	(Std.)
		48	132	192	
		Trächtigkeitsrate			82,9%
		(94 Erstbesamungen)			
BROCKMANN, 1956	Spermasol-Eidotter	Ablamrate			79,5 %
		(404 Besamungen)			
BLOCKHUIS, 1957	Natriumziträt-Eidotter-Sulfonamid	Trächtigkeitsrate			51,2 %
		(535 Erstbesamungen)			
NICOLAI, 1957	1) Natriumziträt-Phosphorverbindungen-Gelatine-Sulfonamid (Riedel-de-Haën-Verd.) ohne oder mit unterschiedlichem Eidottergehalt	Volle Befruchtungsfähigkeit in Stunden (v.B.)			
		Äußerste Befruchtungsfähigkeit in Stunden (ä.B.)			
		Äußerste Lebensdauer in Stunden (ä.L.)			
	2) Spermasol-Eidotter				
	<u>beste Verdüner:</u>				
	a) Natriumziträt-5 % Eidotter	v.B.	ä.B.	ä.L.	(Std.)
		140	244	300	
		Trächtigkeitsrate			77,9 %
		(140 Erstbesamungen)			
	b) Spermasol- 3 % Eidotter	v.B.	ä.B.	ä.L.	(Std.)
		108	244	320	
		Trächtigkeitsrate			87,4 %
		(182 Erstbesamungen)			

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
VELLE et al., 1964	IVT	Trächtigkeitsrate (18 Besamungen)	77 %
ARBEITER, 1964	1) Physiologische Kochsalzlösung	Prozentsatz morphologisch veränderter Spermien	15,88 %
	2) Spermasol-T	Prozentsatz morphologisch veränderter Spermien	15,45 %
LYNGSET et al., 1965	IVT-Eidotter	Trächtigkeitsrate (63 Besamungen)	60 %
BONFERT, 1966	1) Natriumzitrat	Non-Return-Rate (4504 Besamungen)	70,5 %
	2) Magermilch		
	3) Spermasol-Eidotter		
CORTEEL, 1967	Natriumzitrat-Eidotter-Penicillin-Streptomycin	Ablamrate (193 Besamungen mit $150 \cdot 10^6$ Spermien / 0,4 ml)	26,9 %
GRÜTMEIER, 1969	Spermasol N-Eidotter	Non-Return-Rate	67,3 - 73,4 %
SANTISTEBAN et al., 1980	Natriumzitrat-Glukose	Non-Return-Rate (72 Besamungen)	84,7 %

Autoren	Verdünner	Beurteilungskriterien
MATHEW et al., 1984	Tris-Zitronensäure- Fructose-Eidotter	Prozentsatz motiler Spermien über einen Zeitraum von 7 Tagen bei 3 verschiedenen pH-Werten (6,5 - 7,0) und 6 verschiedenen Eidotterkon- zentrationen (5 - 30 %) des Verdünners sowie 2 verschiede- nen Lagerungstemperaturen des verdünnten Spermas (3-5 bzw. 6-8 ⁰ C) 33,8 - 71,6 %

Anmerkung: Ablamprate (%) = $\frac{\text{Zahl der lammenden Ziegen}}{\text{Zahl der besamten Ziegen}} \cdot 100$

2.9. Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über verschiedene Verdüner zur Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma sowie über die bei deren Erprobung angewandten Beurteilungskriterien.

Tab. 5 : Verdüner zur Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
LIESS und OSTROWSKI, 1960	Spermasol-Eidotter- Glyzerin	Ablamtrate (90 Besamungen)	13,3 %
VLACHOS und TSAKALOFF, 1963	1) Magermilch-Glyzerin- Antibiotika	Prozentsatz vorwärtsbeweg- licher Spermien	
		- nach Einfrieren	12,5 %
		- nach 1 Monat Lagerung	14,4 %
	2) Natriumzitrat-Eidotter- Glyzerin-Antibiotika	Prozentsatz vorwärtsbeweg- licher Spermien	
		- nach Einfrieren	48,0 %
		- nach 1 Monat Lagerung	49,5 %
		Konzeptionsrate (54 Besamungen)	57,6 %
	3) Spermasol-Eidotter- Glyzerin-Antibiotika	Prozentsatz vorwärtsbeweg- licher Spermien	
		- nach Einfrieren	39,0 %
		- nach 1 Monat Lagerung	41,2 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
WETTKE, 1964	Magermilch-Glyzerin	Non-Return-Rate (232 Besamungen)	45,8-81,2 %
BONFERT, 1965	Magermilch-Glyzerin	Non-Return-Rate Trächtigkeitsrate (4150 Besamungen)	60,1-63,6 % 58,6-74,2 %
LYNGSET et al., 1965	IVT-Eidotter-Glyzerin	Trächtigkeitsrate (54 Doppelbesamungen)	22 %
GOFFAUX und CORTEEL, 1967	1) Magermilch-Glyzerin- Penicillin-Streptomycin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen	23,5 %
	2) Natriumzitrat-Eidotter- Glyzerin-Penicillin- Streptomycin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen	40,7 %
		Ablamprate (168 Besamungen mit $135 \cdot 10^6$ Spermien/Dosis)	15,0 %
BARKER, 1968	Magermilch-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen	40 %
SCHMIDT, 1968	Laktose-Glukose- Raffinose-Eidotter- Glyzerin-Penicillin- Streptomycin	Prozentsatz vorwärtsbeweg- licher Spermien nach dem Auftauen	27 %
		Non-Return-Rate	36,4 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
ANDERSEN, 1969	Magemilch-Fruktose-Glyzerin	Konzeptionsrate (22 Besamungen)	73 %
BONFERT, 1969	Magemilch-Glyzerin	Non-Return-Rate (7969 Besamungen)	58,2-66,6 %
GRÜTTEMEIER, 1969	Magemilch-Glyzerin	Non-Return-Rate	58,2-66,6 %
PAGGI, 1971	Raffinose-Eidotter-Glyzerin mit versch. Raffinose-Konzentration		
	<u>beste Verdüner:</u>		
	13 % Raffinose-Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen	56,7 %
		Non-Return-Rate (40 Besamungen)	46,7 %
SAMOUILLIDIS und HAHN, 1972	1) Laiciphos	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen	30-65 %
		Trächtigkeitsrate (166 Besamungen)	74,8 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien												
	2) Tris-Zitronensäure-Fruktose-Eidotter-Glyzerin-Penicillin-Streptomycin	Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach dem Auftauen 60-70 % Trächtigkeitsrate 82,2 % (129 Besamungen)												
CORTEEL, 1974	Magermilch-Glukose-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien - vor Einfrieren 63,6 % - nach dem Auftauen 26,8 %												
CORTEEL, 1975 a	Magermilch-Glukose-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien in nicht gewaschenen (n.gew.) und gewaschenen Ejakulaten nach 90- bzw. 180-tägiger Lagerung in flss. Stickstoff <table> <tr> <td></td><td>n.gew.</td><td>gew.</td></tr> <tr> <td>90 Tage</td><td>42,7 %</td><td>38,9 %</td></tr> <tr> <td>180 Tage</td><td>41,4 %</td><td>48,8 %</td></tr> </table>		n.gew.	gew.	90 Tage	42,7 %	38,9 %	180 Tage	41,4 %	48,8 %			
	n.gew.	gew.												
90 Tage	42,7 %	38,9 %												
180 Tage	41,4 %	48,8 %												
CORTEEL, 1975 b	Magermilch-Glukose-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien in nicht gewaschenen (n.gew.) und gewaschenen Ejakulaten nach der Verdünnung (Verd.), Adaptation (Adapt.) und im 2-stündigen Thermo-resistenztest (TRT) bei + 37° C <table> <tr> <td></td><td>n.gew.</td><td>gew.</td></tr> <tr> <td>Verd.</td><td>70 %</td><td>74 %</td></tr> <tr> <td>Adapt.</td><td>60 %</td><td>70 %</td></tr> <tr> <td>TRT</td><td>10 %</td><td>30 %</td></tr> </table>		n.gew.	gew.	Verd.	70 %	74 %	Adapt.	60 %	70 %	TRT	10 %	30 %
	n.gew.	gew.												
Verd.	70 %	74 %												
Adapt.	60 %	70 %												
TRT	10 %	30 %												

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien	
		Ablamrate in Abhängigkeit von natürlicher Brunst oder Brunst- induktion bzw. -synchronisation (Doppelbesamung von 169 Ziegen mit je $100-125 \times 10^6$ motilen Spermien pro Insemination) 69-75 %	
CORTEEL, 1976	Magermilch-Glukose- Glyzerin	Non-Return-Rate (137 Besamungen; Ejakulate gewaschen)	67,9 %
		Ablamrate	69,1 %
FOUGNER, 1976	Tris-Zitronensäure- Fruktose-Eidotter- Glyzerin-Antibiotika	Non-Return-Rate (1291 Besamungen von 916 Ziegen)	71 %
KUPFERSCHMIED und MUTHER, 1977	Tris-Zitronensäure- Fruktose-Eidotter- Glyzerin-Penicillin- Dihydrostreptomycin	Trächtigkeitsrate (Doppelbesamung von 78 Tieren mit je $150-200 \times 10^6$ Spermien/Insemination)	75,6 %
FOUGNER, 1979	Tris-Zitronensäure- Fruktose-Eidotter- Glyzerin-Antibiotika	Trächtigkeitsrate (intrauterine Besamung von 3240 Tieren mit 75×10^6 Spermien/Insemination)	63,4 %
BONGSO et al., 1982	Tris-Zitronensäure- Fruktose-Eidotter- Glyzerin	Trächtigkeitsrate (40 Besamungen mit 100×10^6 Spermien/Inseminations- dosis von 0,5 ml)	81,0 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
SALAMON und RITAR, 1982	Tris-Zitronensäure- Eidotter-Glyzerin mit Zusatz von Glukose, Fruktose, Laktose oder Raffinose in unterschiedl. Konzentration; mit versch. Tris-, Ei- dotter u. Glyzerin- konzentrationen sowie unterschiedl. Verdünnungs- raten und ein- bzw. zwei- phasiger Verdünnung	Prozentsatz motiler Spermien nach dem Auftauen in einem 6-stündigen Thermoresistenz- test bei + 37° C
	<u>bester Verdüner:</u> Tris (375 mM)-Zitronen- säure (124 mM)-Glukose (41,625 mM)-Eidotter (9%)- Glyzerin (4%) bei einphasiger Verdünnung bei + 30° C und 1,5 stündiger Adaptation bei + 5° C	Prozentsatz motiler Spermien im Thermoresistenztest 38,5 %
SAMOUILIDIS et al., 1982	Tris-Zitronensäure- Fruktose-Eidotter- Glyzerin-Penicillin- Streptomycin	Prozentsatz vorwärtsbeweg- licher Spermien - nach Auftauen 65-70 % - nach 11 Jahren 55-60 % Lagerung Befruchtungsrate (30 Doppelbesamungen) - nach Auftauen 66,7 % - nach 11 Jahren 53,3 % Lagerung

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien
RITAR und SALAMON, 1982	Tris-Zitronensäure- Glukose-Eidotter- Glyzerin	Prozentsatz lebender Spermien im 6-stündigen Thermoresistenz- test bei + 37° C - Ejakulat nicht gewaschen 24,9 % - Ejakulate 1 x gewaschen 34,2 % - Ejakulate 2 x gewaschen 38,2 %
RESENDE et al., 1983	Laktose-ADTA- Eidotter-Glyzerin	Trächtigkeitsrate 50 % (24 Doppelbesamungen)
CORTFEL et al., 1984 b	Magermilch-Glukose- Glyzerin	Trächtigkeitsrate in Abhängig- keit von Rasse und Art der Brunstsynchronisation (Doppelbesamung von 153 Tieren mit je 150×10^6 Spermien/In- semination) 63,0-72,5 %
GRÖTTE, 1984	Magermilch-Fruktose- Eidotter-Glyzerin	Durchschnittl. Non-Return- Rate 60 % (80-100 x 10^6 Spermien pro 0,25 ml-Dosis)
KOLK, 1985	Tris-Zitronensäure- Fruktose-Eidotter- Glyzerin-Penicillin- Streptomycin	Prozentsatz vorwärtsbeweg- licher Spermien 24 Std. nach dem Einfrieren 55-65 %

Autoren	Verdüner	Beurteilungskriterien									
		Non-Return-Rate 85 % (40 Erstbesamungen mit 50×10^6 Spermien pro 0,25 ml-Dosis)									
MEMON et al., 1985		Prozentsatz vorwärtsbeweg- licher Spermien (V) und Spermien mit normalem Akrosom (NA) nach dem Auf- tauen (n.A.) und im 8 stündigen Thermoresistenztest (8 h) bei $+ 37^{\circ} \text{C}$									
1) Magermilch-Glyzerin		<table> <tr> <td></td><td>n.A.</td><td>8 h</td></tr> <tr> <td>V (%)</td><td>61,4</td><td>3,0</td></tr> <tr> <td>NA (%)</td><td>63,3</td><td>32,0</td></tr> </table>		n.A.	8 h	V (%)	61,4	3,0	NA (%)	63,3	32,0
	n.A.	8 h									
V (%)	61,4	3,0									
NA (%)	63,3	32,0									
2) Laktose-Eidotter- Glyzerin		<table> <tr> <td></td><td>n.A.</td><td>8 h</td></tr> <tr> <td>V (%)</td><td>59,3</td><td>13,0</td></tr> <tr> <td>NA (%)</td><td>56,4</td><td>40,0</td></tr> </table>		n.A.	8 h	V (%)	59,3	13,0	NA (%)	56,4	40,0
	n.A.	8 h									
V (%)	59,3	13,0									
NA (%)	56,4	40,0									
3) Tris-Zitronensäure- Dextrose-Eidotter- Glyzerin		<table> <tr> <td></td><td>n.A.</td><td>8 h</td></tr> <tr> <td>V (%)</td><td>53,1</td><td>19,0</td></tr> <tr> <td>NA (%)</td><td>59,3</td><td>43,0</td></tr> </table>		n.A.	8 h	V (%)	53,1	19,0	NA (%)	59,3	43,0
	n.A.	8 h									
V (%)	53,1	19,0									
NA (%)	59,3	43,0									
PÉREZ, 1985	Tris-Zitronensäure- Glukose-Orvus Es Paste- Eidotter-Glyzerin	Prozentsatz motiler Spermien (Mot) und Spermien mit norma- lem akrosomalen Rand (NAR) ohne Waschen (o.W.) und mit einmaligem Waschen (W) der Spermien mit dem Verdüner im Thermoresistenztest ($+ 38^{\circ} \text{C}$; nach 5 und 120 min)									

Autoren	Verdünnung	Beurteilungskriterien			
		o.W.		W.	
		5 min	120 min	5 min	120 min
		Mot (%)	61,7 28,6	60,6	33,9
		NAR (%)	54,5 32,4	46,5	29,5
Non-Return-Rate (NRR) und Ablammrate (AR);					
		o.W.		W.	
		(24 Insem.)		(24 Insem.)	
		NRR (%)	83,3	75,0	
		AR (%)	66,7	54,2	
BAY, 1986					
	1) Tris-Zitronensäure-Fruktose-Eidotter-Glyzerin-Penicillin-Dihydrostreptomycin	Motile Spermien nach Auftauen mind. 65 %			
	2) Triladyl ^R -Eidotter				

Anmerkung: Ablammrate (%) = $\frac{\text{Zahl der lammenden Ziegen}}{\text{Zahl der besamten Ziegen}} \cdot 100$

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Methodik und herangezogene Tiere

3.1.1. Auswahl geeigneter Spermaverdünner

Da in der Literatur bezüglich pH-Wert und Osmolalität von Spermaverdünnern nur selten exakte Angaben zu finden sind, wurden die gebräuchlichsten Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma sowie zur Flüssig- und Tiefgefrierkonservierung von Schafbock- und Ziegenbocksperma je fünfmal hergestellt und aus den gemessenen Einzelwerten für pH und Osmolalität die Mittelwerte errechnet. Diese bildeten die Grundlage in den folgenden Versuchen. Für jede der untersuchten Tierarten und für jedes durchgeführte Spermakonservierungsverfahren wurden je zwei Verdünner ausgewählt, die sich in ihrem pH-Wert und in ihrer Osmolalität deutlich voneinander unterschieden. Die zur Herstellung der folgenden Verdünner verwendeten Substanzen und ihre Bezugsquellen sind in Kap. 3.1.2.2. aufgelistet.

3.1.2. Herstellung der verwendeten Spermaverdünner

3.1.2.1. Rezepturen der verwendeten Verdünner

3.1.2.1.1. Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma

- Laktose-Verdünner nach NAGASE und GRAHAM (1964)

75,3 ml	Laktose-Lösung 11%ig
20,0 ml	Eidotter
4,7 ml	Glyzerin

pH-Wert	5,86
Osmolalität	325,87 mOsm/kg

- Triladyl^R - Verdünner ,

250 g Triladyl^R - Konzentrat*
250 ml Eidotter
750 ml Aqua bidest.

pH-Wert 6,66
Osmolalität 414,20 mOsm/kg

* Triladyl^R - Konzentrat ist eine Weiterentwicklung eines Tris-Verdünners (HAHN et al., 1969). Das Konzentrat enthält Tris-(hydroxymethyl-)aminomethan, Zitronensäure, Fruktose, Glycerin und Aqua bidest. Die Glycerinkonzentration im fertigen Verdünner beträgt 6 % (SIMMET, 1983).

3.1.2.1.2. Verdünner zur Flüssigkonservierung von Schafbocksperma

- Natriumzitat - Glukose - Verdünner nach SCHLEICHER und BRÜCKNER (1973)

2,50 g tri-Natriumzitat-5,5-hydrat
0,64 g Glukose
20,0 ml Eidotter
100,0 ml Aqua bidest.
200 000 I.E. Penicillin-G Natrium
0,05 g Streptomycinsulfat

pH-Wert 7,13
Osmolalität 254,60 mOsm/kg

- Phosphat - Glukose - Verdünner nach GÖTZE (1964)

0,356	g	di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat
0,900	g	Kaliumdihydrogenphosphat
3,500	g	Glukose
100,0	ml	Aqua bidest.

pH-Wert 6,33
Osmolalität 371,0 mOsm/kg

3.1.2.1.3. Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung
von Schafbocksperma

- Magermilch - Verdünner nach GRÖTTE (1984)

Magermilch-Lösung 11%ig

5	%	Eidotter
2	%	Fruktose
7	%	Glyzerin

pH-Wert 6,55
Osmolalität 454,20 mOsm/kg

- TEST - M/OEP - Verdünner nach TEKIN (1982)

<u>Lösung I :</u>	48,30	g	N-Tris-(hydroxymethyl)-methyl- 2-aminoäthan-sulfonsäure
	11,60	g	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
	2,00	g	D-Fruktose
	920,00	g	Aqua bidest.

Lösung II : 11,00 g Magermilchpulver
 ad 100,00 g Aqua bidest.

Lösung II für 5 Minuten auf +92° C erhitzen

<u>Lösung III</u>	:	38,00	ml	Lösung I
		38,00	ml	Lösung II
		20,00	ml	Eidotter
		4,00	ml	Glyzerin

<u>Verdünner:</u>	100,00	ml	Lösung III
	0,50	ml	Orvus-Es-Paste

pH-Wert	7,21
Osmolalität	329,60 mOsm/kg

3.1.2.1.4. Verdünner zur Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma

- Natriumzitrat - Verdünner nach ROSENWINKEL (1953)

3,5	%	Natriumzitrat-Dihydrat
5,0	%	Eidotter

pH-Wert	7,21
Osmolalität	331,80 mOsm/kg

- Spermasol^R - Milch 100 - Verdünner

		Spermasol ^R - Pulver [*] (1 Beutel)
100	ml	Aqua bidest.
3	%	Eidotter

pH-Wert	6,63
Osmolalität	293,40 mOsm/kg

* Spermasol^R - Milch 100 - Pulver ist ein Sperma-Verdünnungsmittel in Pulverform auf der Basis von Trockenmagermilch mit Antibiotikaschere.

3.1.2.1.5. Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung
von Ziegenbocksperma

- Tris - Verdünner nach KOLK (1985)

6,0	g	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan
3,4	g	Zitronensäure
2,5	g	Fruktose
48,0	ml	Eidotter
16,0	ml	Glyzerin
ad 250,0	ml	Aqua bidest.
200 000	I.E.	Penicillin-G Natrium
0,2	g	Streptomycinsulfat

pH-Wert 6,80
Osmolalität 336,40 mOsm/kg

- Raffinose - Verdünner nach NAGASE und GRAHAM, modifiziert
nach PAGGI (1971)

89	ml	Raffinose-Lösung 13 %ig
7	ml	Eidotter
4	ml	Glyzerin

pH-Wert 6,27
Osmolalität 253,0 mOsm/kg

3.1.2.2. Reagenzien

Zur Herstellung der in den Versuchen eingesetzten Verdünner
fanden folgende Substanzen Verwendung:

Triladyl ^R - Konzentrat	Stethaimer- Apotheke (R. Simmet) D - 8300 Landshut W.- Germany	
Lactose (Monohydrat)	E. Merck Darmstadt	Art. 7656
tri-Natriumzitat- 5,5-hydrat reinst	E. Merck Darmstadt	Art. 6431
tri-Natriumzitat- Dihydrat reinst	E. Merck Darmstadt	Art. 6432
di-Natrium- hydrogenphosphat- 2-hydrat	E. Merck Darmstadt	Art. 6580
Kaliumdihydrogen- phosphat	Riedel de Haën Seelze	Art. 30407
Natriumchlorid kristallin	E. Merck Darmstadt	Art. 6404
D(+)-Glucose wasserfrei	E. Merck Darmstadt	Art. 8337
D(-)-Fructose reinst	E. Merck Darmstadt	Art. 5321
D(+)-Raffinose Pentahydrat	Sigma ^R Chemie GmbH Deisenhofen	No.R- 0250
Citronensäure- 1-hydrat	E. Merck Darmstadt	Art. 244

Tris-(hydroxymethyl)- aminomethan	E. Merck Darmstadt	Art. 8382
N-Tris(hydroxymethyl)- methyl-2-aminoäthan- sulfonsäure (Tes)	E. Merck Darmstadt	Art. 10695
Glyzerin wasserfrei reinst	E. Merck Darmstadt	Art. 4093
Streptomycin sulfate	Sigma ^R Chemie GmbH Deisenhofen	No.S- 6501
Penicillin-G, sodium salt	Sigma ^R Chemie GmbH Deisenhofen	No.PEN-NA
Orvus Es Paste (EQUEX STM.)	Nova Chemical Sales, Inc. P.O. Box 144, Scituate, Ma., 02066 USA	
Magermilchpulver instant	Uelzena Milchwerke Uelzen	
Spermasol ^R - Milch 100	Iffa Merieux GmbH Laupheim	

3.1.2.3. Praktische Durchführung der Verdünnerherstellung

Alle untersuchten Verdünner wurden unmittelbar vor ihrer Verwendung frisch hergestellt.

Das zur Verdünnerherstellung benötigte Wasser wurde grundsätzlich zweifach destilliert und zusätzlich durch zwei Bakterienfilter

(Typ Milli-RO 4; Fa. Millipore GmbH, D-6078 Neu-Isenburg, W.-Germany) geleitet.

Zur Gewinnung des Eidotters wurde jeweils die erforderliche Anzahl an möglichst frischen Hühnereiern aufgeschlagen und das Eiweiß verworfen. Die Abtrennung des restlichen Eiweißes und der Hagelschnüre erfolgte durch vorsichtiges Wälzen des Eidotters auf zwei Filterpapieren (S u. S Rundfilter, Ø 125 mm; Schleicher und Schüll GmbH, D - 3354 Dassel, W.-Germany). Anschließend wurde der Eidotter mit einem Rührspatel angestochen und die erforderliche Menge in einer Plastik-Einmalspritze aufgefangen. Die zur Verdünnerherstellung erforderlichen Substanzen wurden auf einer Analysenwaage (Modell 404, Fa. Sauter KG, D -7470 Ebingen, W.-Germany) in 250 ml fassende Erlenmeyerkolben (DURAN, Jenaer Glas, Fa. Schott, D-6500 Mainz, W.-Germany) abgewogen, mit der entsprechenden Menge Aqua bidest. versetzt und bis zur völligen Auflösung über einer Bunsenbrennerflamme erwärmt. Der Zusatz von Eidotter und eventuell erforderlichen Antibiotika erfolgte erst nach Abkühlung der erwärmten Lösung auf Zimmertemperatur. Tiefgefrierverdünner wurden nach dem Glyzerinzusatz für einige Minuten auf ca. + 30° C erwärmt, bis sich die glyzerinbedingten Schlieren aufgelöst hatten. Durch diese Erwärmung wird eine vollständige Durchmischung des Verdünners mit dem Glyzerin erreicht.

3.1.2.4. Messung von pH-Wert und Osmolalität der Verdünner

Der pH-Wert der Verdünner wurde nach deren Fertigstellung mit einem pH-Meter (pH-Meßgerät 422, Fa. Wissenschaftlich-technische Werkstätten GmbH, D-8120 Weilheim/OB, W.-Germany) sowie einer speziell zur Messung kleiner Flüssigkeitsmengen konstruierten pH-Elektrode (pH-Mikro-Einstabmeßkette LoT 405 - M 5, Fa. Ingold GmbH und Co.KG, D-6000 Frankfurt/Main 1, W.-Germany) ermittelt.

Die Bestimmung der Osmolalität erfolgte mit einem elektronischen Halbmikro-Osmometer (Fa. Knauer, D-6380 Bad Homburg, W.-Germany).

3.1.2.5. Modifizierung von pH-Wert und Osmolalität der verwendeten Verdünner

Die notwendige Veränderung des ursprünglichen pH-Wertes der Verdünner erfolgte durch Titration. Zur Erhöhung des pH-Wertes fand 1 N NaOH (Fa. E. Merck, Darmstadt, Art. 9137) Verwendung, zur Erniedrigung des pH-Wertes 5,5 prozentige Zitronensäurelösung. Die Zitronensäurelösung wurde mit Hilfe von Citronensäure reinst (Fa. E. Merck, Darmstadt, Art. 241) selbst hergestellt und im Kühlschrank bei + 5° C aufbewahrt.

Eine erforderliche Erhöhung der Osmolalität geschah durch Zugabe der entsprechenden Menge von kristallinem Natriumchlorid, eine Verminderung der Osmolalität durch Zusatz von Aqua bidest.

3.1.3. Samenspender

Als Samenspender standen zur Verfügung:

- 3 Bullen der Rasse Deutsches Fleckvieh (Ohrenmarken-Nr. 2, 18 und 20; Alter 2 - 2,5 Jahre)
- 2 Schafböcke der Rasse Deutsches Bergschaf (Ohrenmarken-Nr. 32 und 37; Alter 3 und 2 Jahre) sowie 1 Schafbock der Rasse Deutsches Schwarzköpfiges Fleischschaf (Ohrenmarken-Nr. 33, Alter 4 Jahre)
- 1 Ziegenbock der Rasse Weiße Deutsche Edelziege (Ohrenmarken-Nr. 4, Alter etwa 2 Jahre), 1 Ziegenbock der Rasse Bunte Deutsche Edelziege (Ohrenmarken-Nr. 5, Alter 1,5 Jahre) sowie 1 Mischlingsbock aus Weißer und Bunter Deutscher Edelziege (Ohrenmarken-Nr. 6, Alter 1,5 Jahre)

Das Allgemeinbefinden der Tiere war mit einer Ausnahme (siehe unten) während der Dauer der Versuche ungestört. Es konnten keine Befunde erhoben werden, die auf Besonderheiten der Geschlechtsorgane und der Sexualfunktionen hingedeutet hätten. Über das Befruchtungsvermögen der Tiere lagen keine Angaben vor.

Der Schafbock mit der Ohrenmarken-Nr. 33 mußte während des Versuchsablaufs wegen eines - trotz intensiver Behandlung - rezidivierenden Klauenleidens mit zum Teil erheblichen Allgemeinstörungen und wegen einer zunehmenden Verschlechterung der Spermaqualität aus den Untersuchungen ausscheiden. Als Ersatz stand für die Versuche zur Tiefgefrierkonservierung ein weiterer Bock der Rasse Deutsches Schwarzköpfiges Fleischschaf (Ohrenmarken-Nr. A, Alter 2 Jahre) zur Verfügung.

3.1.4. Spermagewinnung

3.1.4.1. Spermagewinnung beim Bullen

Die Spermagewinnung beim Bullen erfolgte mit Hilfe einer künstlichen Scheide (Künstliche Scheide nach Götze, Fa. Hauptner, D-5650 Solingen, W.-Germany), deren Wassermantel auf + 42° C temperiert war. Als Deckpartner diente ein anderer Bulle, der in einem Deckstand fixiert wurde. Die Spermagewinnung erfolgte in jedem Fall erst nach einem Leersprung des abzusamenden Bullen. Die Bullen wurden regelmäßig zweimal pro Woche im Abstand von 2 - 3 Tagen zur Spermagewinnung herangezogen.

3.1.4.2. Spermagewinnung beim Schafbock

Zur Spermagewinnung beim Schafbock wurde eine künstliche Scheide für kleine Wiederkäuer (Fa. Hauptner, D-5650 Solingen, W.- Germany) verwendet.

Die Innentemperatur der künstlichen Scheide betrug $+ 42^{\circ} \text{C}$. Zusätzlich wurde zur Verstärkung des Ejakulationsreizes Luft über ein Ventil in die Scheide eingeblasen. Ein Zwitter oder auch ein bockendes bzw. nicht bockendes Schaf wurde als Deckpartner auf einer Absamrampe fixiert. Das Auffangen des Ejakulates erfolgte besonders in der kalten Jahreszeit in einem mit einem Schaumstoff-Wärmemantel geschützten Samenauffangglas. Die Schafböcke wurden an je 2 aufeinanderfolgenden Tagen der Woche zur Spermagewinnung herangezogen und erhielten anschließend einen bzw. zwei Tage Deckruhe.

3.1.4.3. Spermagewinnung beim Ziegenbock

Technik und Rhythmus der Spermagewinnung beim Ziegenbock erfolgten wie beim Schafbock. Als Deckpartner diente eine brünstige oder eine nichtbrünstige Ziege.

3.1.5. Spermauntersuchung

3.1.5.1. Beurteilungskriterien mit besonderem Schwerpunkt

3.1.5.1.1. Motilität

Zur Bestimmung der Spermienmotilität wurde der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien subjektiv durch Schätzung ermittelt. Hierzu wurde ein Tropfen Sperma von etwa 0,01 ml auf einen Objektträger gegeben, der auf einem Mikroskopheiztisch auf $+ 38^{\circ} \text{C}$ vorgewärmt war. Der Spermatropfen wurde mit einem Deckgläschen (18 x 18 mm) abgedeckt und unter dem Mikroskop (Mikroskop SM-Lux, Fa. Leitz KG, D-8000 München 22, W.-Germany) bei Phasenkontrastbeleuchtung und 400-facher Vergrößerung untersucht.

3.1.5.1.2. Lebend - Tot - Färbung

Die Lebend-Tot-Färbung der Spermien erfolgte mit einer Bromphenolblau-Nigrosin-Lösung (BONNADONNA und OLGATI, 1953). Die dazu benötigten gereinigten und entfetteten Objektträger sowie die Färbelösung wurden in einem Brutschrank auf + 38° C. vortemperierte. Ein Spermotropfen von 0,01 ml wurde mit einer Pasteur-Pipette auf einen solchen Objektträger gegeben, daneben ein etwa gleich großer Tropfen Bromphenolblau-Nigrosin-Lösung. Beide Tropfen wurden durch behutsames Verrühren mit dem stumpfen Ende einer Pasteur-Pipette gemischt. Anschließend wurde ein Deckgläschen (18 x 18 mm) in dieses Gemisch getaucht und ein Ausstrich angefertigt. Nach Lufttrocknung erfolgte die Untersuchung des Ausstriches unter dem Mikroskop bei 1000-facher Vergrößerung und Ölimmersionstechnik. Pro Ausstrich wurden 300 Spermien ausgezählt, und der Prozentsatz ungefärbter Spermien ermittelt.

3.1.5.1.3. Bestimmung von pH-Wert und Osmolalität

Zur Messung von pH-Wert und Osmolalität wurde wie in 3.1.2.4. beschrieben vorgegangen.

3.1.5.2. Untersuchung der Nativejakulate

Unmittelbar nach der Spermagewinnung wurden die Ejakulate in ein Wasserbad verbracht, das je nach Tierart eine unterschiedliche Temperatur hatte (siehe 3.1.6.). Anschließend erfolgte die Beurteilung des Nativspermas nach folgenden Kriterien:

- Volumen
- Farbe

- Konsistenz
- Massenbewegung
- Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien
- Dichte (Bestimmung in Zählkammer nach BÜRKER - TÜRK)
- Prozentsatz ungefärbter Spermien (siehe 3.1.5.1.2.)
- pH-Wert
- Osmolalität (mOsm/kg)

3.1.5.3. Untersuchung der verdünnten Spermaproben

3.1.5.3.1. Untersuchung der flüssigkonservierten Proben

Die Untersuchung des flüssigverdünnten Spermas erfolgte bei allen drei untersuchten Tierarten unmittelbar nach der Verdünnung des Spermas sowie nach 4-, 24-, 48-, und 72-stündiger Aufbewahrung der verdünnten Proben im Kühlschrank bei + 5° C. Dabei wurden folgende Parameter beurteilt:

- Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien
- Prozentsatz ungefärbter Spermien

3.1.5.3.2. Untersuchung der tiefgefrorenen Proben

Die Untersuchung der verdünnten und tiefgefrorenen Spermaproben erfolgte bei allen drei untersuchten Tierarten unmittelbar nach der Verdünnung, nach der Adaptation, 30 Minuten nach dem

Einfrieren, nach 24-stündiger und nach 8-tägiger Lagerung in flüssigem Stickstoff. Beurteilt wurden:

- Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien
- Prozentsatz ungefärbter Spermien

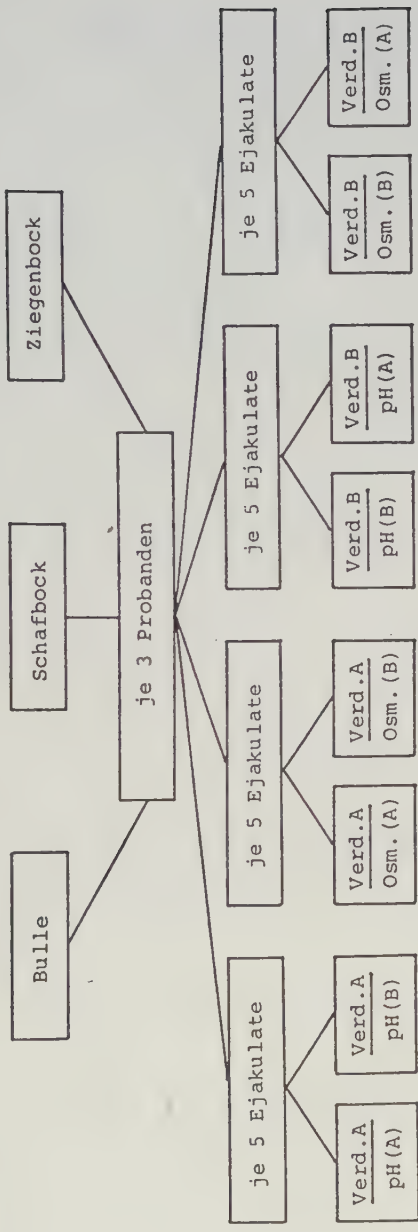
3.1.6. Allgemeiner Versuchsaufbau (Übersicht 1)

Bei allen beschriebenen Versuchen wurde prinzipiell folgendermaßen vorgegangen:

Pro Tierart und pro Konservierungsart wurden zwei verschiedene Verdünner hinsichtlich des Einflusses ihres pH-Wertes und ihrer Osmolalität untersucht. Hierzu wurden 4 Versuchsreihen angesetzt.

Jedes gewonnene Ejakulat wurde in 2 Teile aufgeteilt und im split-sample Verfahren weiterverarbeitet. In einer ersten Versuchsreihe, in der der Einfluß des pH-Wertes eines Verdünners überprüft werden sollte, wurde der eine Teil des Ejakulates mit Verdünner I und Original-pH-Wert, der andere Teil des Ejakulates mit Verdünner I und pH-Wert von Verdünner II verdünnt. In gleicher Weise wurde in einer zweiten Versuchsreihe bei der Untersuchung des Einflusses der Osmolalität vorgegangen. In einer dritten und vierten Versuchsreihe wurde, ausgehend von Verdünner II, analog zu den Versuchsreihen 1 und 2 verfahren.

Übersicht 1: Allgemeiner Versuchsaufbau (schematische Darstellung)



Flüssig- konservierung	<u>Untersuchungszeitpunkt</u> nach Verdünnung nach 4 Stunden nach 24 Stunden nach 48 Stunden nach 72 Stunden	<u>Beurteilungskriterien</u> Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien Prozentsatz ungefärbter Spermien
Tiefgefrier- konservierung	<u>Untersuchungszeitpunkt</u> nach Verdünnung nach Adaptation nach Auftauen nach 24 Stunden nach 8 Tagen	<u>Beurteilungskriterien</u> Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien Prozentsatz ungefärbter Spermien

3.1.7. Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma
(Übersicht 2)

3.1.7.1. Versuchsanordnung

3.1.7.1.1. pH-Wert

15 Ejakulate (je 5 Ejakulate von 3 Bullen) wurden im split-sample-Verfahren verarbeitet. Der eine Teil jedes Ejakulates wurde mit dem Laktose-Verdünner mit Original-pH-Wert, der andere Teil mit dem Laktose-Verdünner mit dem pH-Wert des Triladyl^R-Verdünners verdünnt.

Weitere 15 Ejakulate (je 5 Ejakulate von 3 Bullen) wurden im split-sample-Verfahren mit dem Triladyl^R-Verdünner mit Original-pH-Wert sowie mit dem pH-Wert des Laktose-Verdünners verdünnt.

3.1.7.1.2. Osmolalität

15 Ejakulate (je 5 Ejakulate von 3 Bullen) wurden im split-sample-Verfahren mit dem Laktose-Verdünner mit Original-Osmolalität und mit der Osmolalität des Triladyl^R-Verdünners verarbeitet.

15 weitere Ejakulate wurden in gleicher Weise mit dem Triladyl^R-Verdünner mit Original-Osmolalität und mit der Osmolalität des Laktose-Verdünners verdünnt.

3.1.7.2. Verdünnung und Aufbewahrung des Bullenspermas

Unmittelbar nach der Gewinnung kamen die Ejakulate in ein Wasserbad von + 22^o C, in dem sich bereits die zu verwendenden

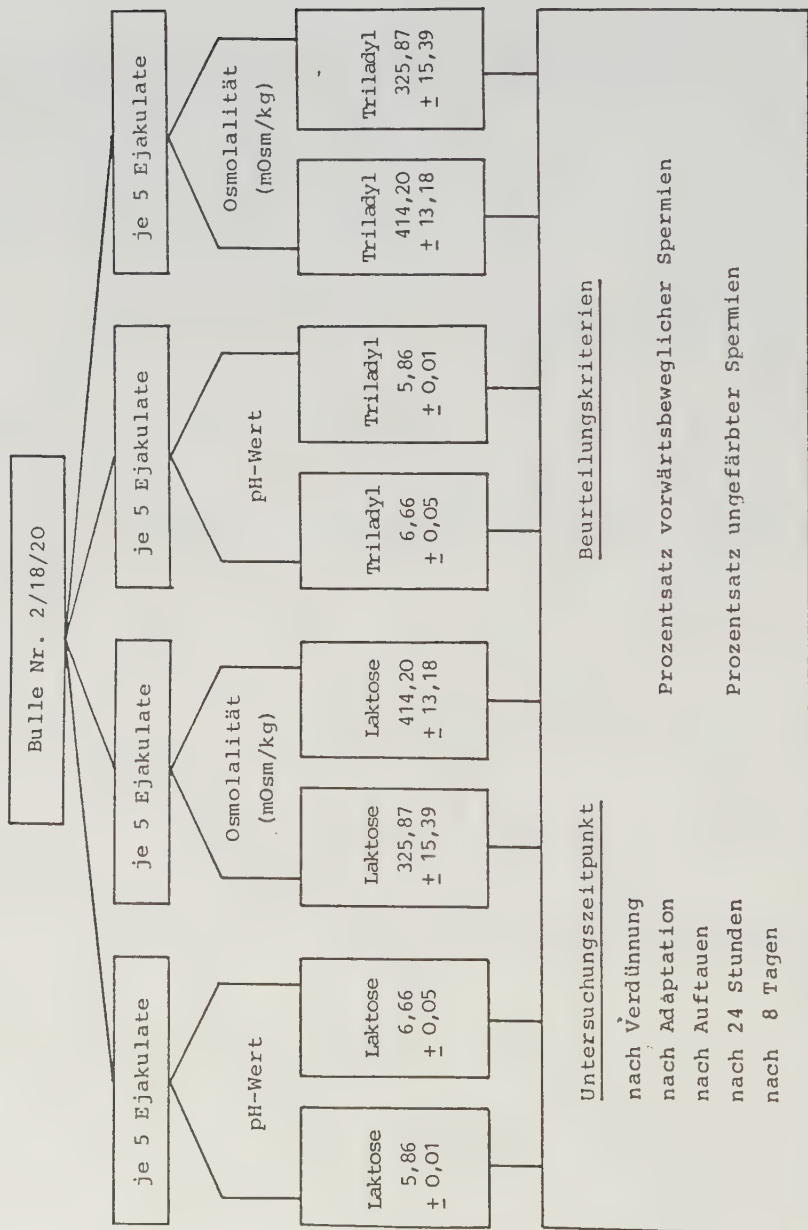
Verdünnernproben befanden. Während der Untersuchung des Nativspermas (3.1.5.2.) konnten Ejakulate und Verdünner die gleiche Temperatur von $+ 22^{\circ}\text{C}$ erreichen. Anschließend wurde jedes Ejakulat in 2 gleiche Teile aufgeteilt und wie in 3.1.7.1. beschrieben im Verhältnis 1 : 15 verdünnt. Die Zugabe des Verdünners erfolgte tropfenweise über eine Glaspipette. Anschließend wurde das verdünnte Sperma in 0,5 ml fassende Pailletten nach CASSOU abgefüllt und im Kühlschrank bei $+ 5^{\circ}\text{C}$ im beschriebenen Wasserbad 2,5 Stunden aufbewahrt. Nach dieser Zeit hatte das Wasserbad eine Temperatur von $+ 5^{\circ}\text{C}$ erreicht.

Die Pailletten wurden nun dem Wasserbad entnommen, abgetrocknet und auf einem Metallnetz horizontal 4 cm über dem Spiegel von flüssigem Stickstoff eingefroren. Die Verweildauer der Pailletten im Stickstoffdampf betrug 7 Minuten. Danach wurden die Pailletten in den flüssigen Stickstoff versenkt und in einem Stickstoffbehälter insgesamt 8 Tage lang gelagert. Das Auftauen erfolgte im Wasserbad von $+ 40^{\circ}\text{C}$ innerhalb von 10 Sekunden. Im Anschluß daran kam der aufgetaute Samen in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß (Nr.3810; 1,5 ml; Eppendorf-Gerätebau, Netheler und Hinz GmbH, 2 Hamburg 63, W.-Germany) und wurde sofort untersucht.

3.1.7.3. Untersuchung des verdünnten Spermas

Die Untersuchung des verdünnten Spermas erfolgte gemäß der Beschreibung in Abschnitt 3.1.5.3.2.

Übersicht 2: Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma (schematischer Versuchsaufbau)



3.1.8. Flüssigkonservierung von Schafbocksperma (Übersicht 3)

3.1.8.1. Versuchsanordnung

3.1.8.1.1. pH-Wert

Von 3 Schafböcken wurden je 5 Ejakulate im split-sample-Verfahren so verarbeitet, daß der eine Teil eines jeden Ejakulates mit dem Natriumzitrat-Glukose-Verdünner mit Original-pH-Wert verdünnt wurde, der andere Teil mit demselben Verdünner, dessen pH-Wert jedoch auf den des Phosphat-Glukose-Verdünners eingestellt war.

Die Verarbeitung weiterer 15 Schafbockejakulate erfolgte in gleicher Weise, wobei nun der Phosphat-Glukose-Verdünner mit originalem pH-Wert und dem pH-Wert des Natriumzitrat-Glukose-Verdünners eingesetzt wurde.

3.1.8.1.2. Osmolalität

Die Untersuchung des Einflusses der Osmolalität erfolgte im Prinzip wie die des pH-Wertes. 15 Schafbockejakulate wurden mit dem Natriumzitrat-Glukose-Verdünner mit originaler und veränderter Osmolalität verdünnt, 15 weitere Ejakulate genauso mit dem Phosphat-Glukose-Verdünner.

3.1.8.2. Verdünnung und Aufbewahrung des Schafbockspermas

Die gewonnenen Ejakulate und die Verdünnerproben kamen zum Temperaturangleich in ein Wasserbad von + 30° C. Nach der Untersuchung des Nativspermas (3.1.5.2.) wurden die Ejakulate wie in

Abschnitt 3.1.8.1. beschrieben durch tropfenweises Zugabe des jeweiligen Verdünners im Verhältnis 1 : 10 verdünnt, in Plastik-Probenröhrchen (Länge 4 cm, Durchmesser 1 cm; Fa. Sarstedt, 5223 Nümbrecht, W.-Germany) abgefüllt und in einem Kühlschrank bei + 5° C für 72 Stunden gelagert.

3.1.8.3. Untersuchung des verdünnten Spermas

Zur Untersuchung des verdünnten Spermas wurden jeweils 300 µl aus den gelagerten Proben entnommen, in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß pipettiert und wie in Abschnitt 3.1.5.3.1. beschrieben untersucht.

3.1.9. Tiefgefrierkonservierung von Schafbock sperma (Übersicht 4)

3.1.9.1. Versuchsanordnung

3.1.9.1.1. pH-Wert

Zur Untersuchung des Einflusses des pH-Wertes wurden zunächst 15 Ejakulate (je 5 Ejakulate von 3 Schafböcken) mit dem Magermilch-Verdünner verdünnt. Dabei wurde im split-sample-Verfahren mit dem Original-pH-Wert und dem pH-Wert des TEST-M/OEP-Verdünners gearbeitet. Weitere 15 Ejakulate wurden mit dem TEST-M/OEP-Verdünner verdünnt, wobei der originale pH-Wert und der pH-Wert des Magermilch-Verdünners Verwendung fanden.

3.1.9.1.2. Osmolalität

15 Ejakulate wurden mit dem Magermilch-Verdünner sowohl mit

originaler Osmolalität und mit der Osmolalität des TEST-M/OEP-Verdünners verdünnt, 15 weitere Ejakulate mit dem TEST-M/OEP-Verdünnern mit originaler Osmolalität und Osmolalität des Magermilch-Verdünners.

3.1.9.2. Verdünnung und Aufbewahrung des Schafbockspermas

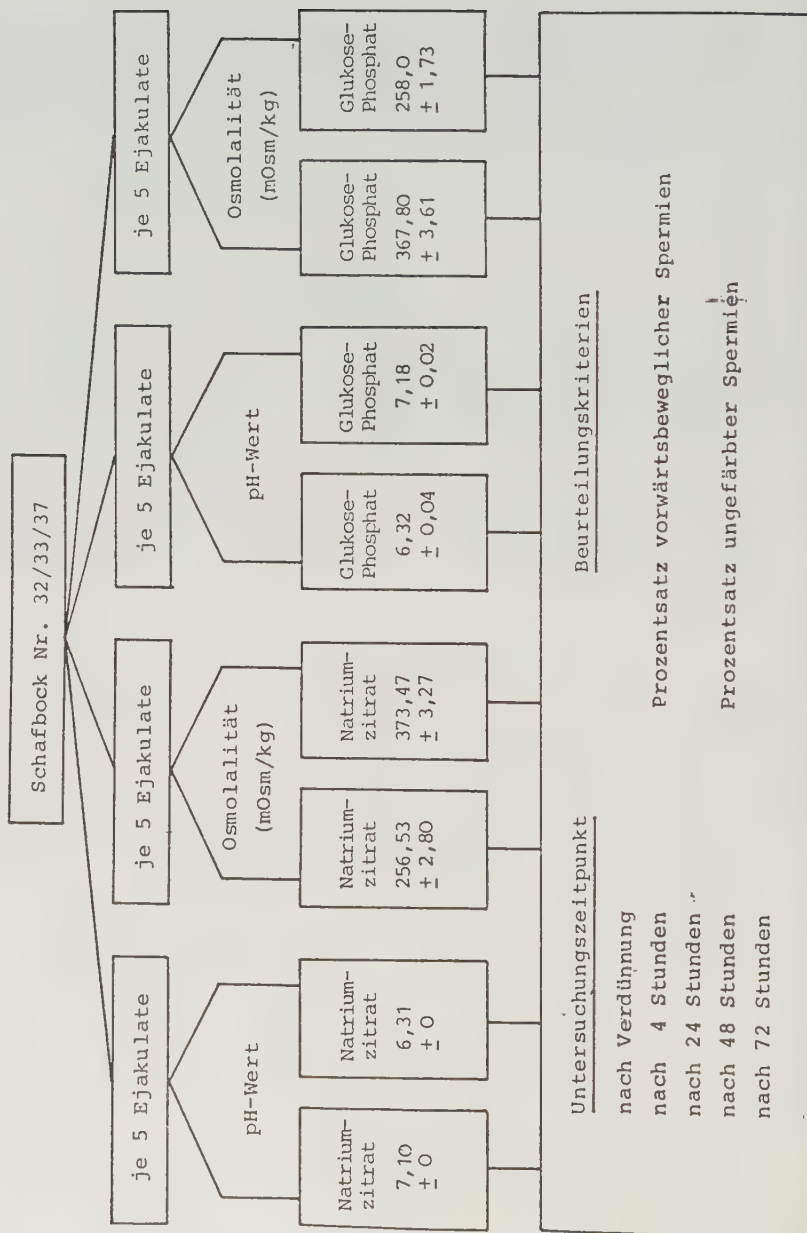
Unmittelbar nach der Spermagewinnung wurden die Ejakulate und die vorgesehenen Verdünnerproben in ein Wasserbad von $+ 22^{\circ}\text{C}$ zum Temperaturangleich verbracht. Während dieser Zeit erfolgte die Untersuchung des Nativspermias (3.1.5.2.). Nachdem Sperma und Verdünner eine Temperatur von $+ 22^{\circ}\text{C}$ erreicht hatten, wurde der Samen im Verhältnis 1 : 8 tropfenweise verdünnt und in 0,5 ml-Pailletten nach CASSOU abgefüllt. Die Pailletten verblieben im Wasserbad und wurden in einen Kühlschrank gebracht, wo das verdünnte Sperma im Verlauf von 2,5 Stunden auf $+ 5^{\circ}\text{C}$ abgekühlt wurde.

Nach Erreichen dieser Temperatur wurden die Pailletten auf einem Metallnetz horizontal in Stickstoffdampf 4 cm über dem Spiegel von flüssigem Stickstoff innerhalb von 10 Minuten eingefroren und anschließend in flüssigem Stickstoff bei einer Temperatur von $- 196^{\circ}\text{C}$ gelagert. Das Auftauen der Pailletten erfolgte im Wasserbad von $+ 38^{\circ}\text{C}$ innerhalb von 15 Sekunden. Die aufgetauten Proben kamen in Eppendorf-Reaktionsgefäße und wurden einer sofortigen Untersuchung zugeführt.

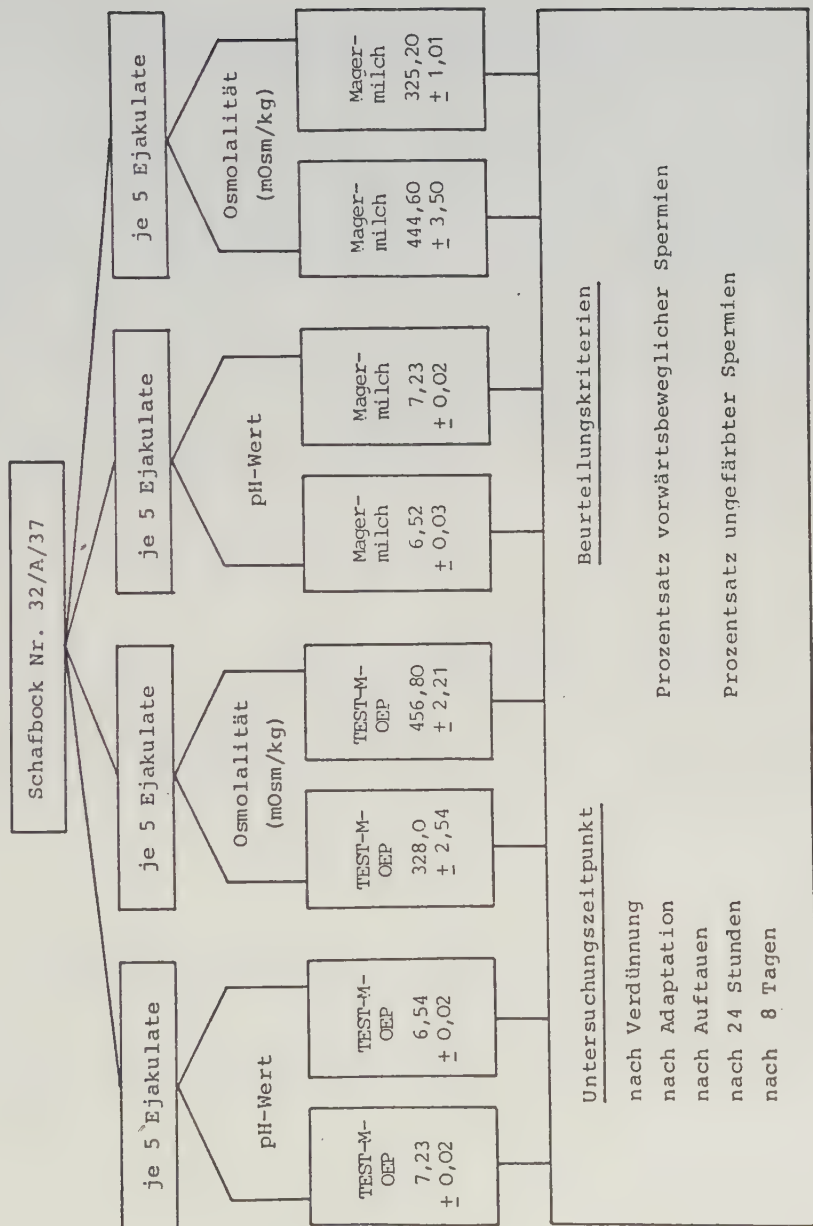
3.1.9.3. Untersuchung des verdünnten Spermias

Die Untersuchung der aufgetauten Spermaproben erfolgte wie in Abschnitt 3.1.5.3.2. beschrieben.

Übersicht 3: Flüssigkonservierung von Schafbocksperma (schematischer Versuchsaufbau)



Übersicht 4: Tiefgefrierkonservierung von Schafbocksperma (schematischer Versuchsaufbau)



3.1.10. Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma
(Übersicht 5)

3.1.10.1. Versuchsanordnung

3.1.10.1.1. pH-Wert

Zunächst wurden 15 Ejakulate (je 5 Ejakulate von 3 Ziegenböcken) mit dem Natriumzitrat-Verdünner verdünnt, wobei dessen originaler pH-Wert als auch der pH-Wert des Spermasol^R-Milch 100-Verdünners eingestellt wurde. Weitere 15 Ejakulate wurden dann mit dem Spermasol^R-Milch 100-Verdünner unter Verwendung des originalen pH-Wertes und des Wertes des Natriumzitrat-Verdünners konserviert.

3.1.10.1.2. Osmolalität

15 Ziegenbockejakulate wurden mit dem Natriumzitrat-Verdünner sowohl mit dessen Ausgangsosmolalität als auch mit der Osmolalität des Spermasol^R-Milch 100-Verdünners verarbeitet. 15 weitere Ejakulate wurden mit dem Spermasol^R-Milch 100-Verdünner (Original-Osmolalität und Osmolalität des Natriumzitrat-Mediums) verdünnt.

3.1.10.2. Verdünnung und Aufbewahrung des Ziegenbockspermas

Die gewonnenen Ejakulate und die vorbereiteten Verdünnerproben kamen zum Temperaturangleich in ein Wasserbad von + 32° C. Nach der Untersuchung des Nativspermas (3.1.5.2.) wurde dieses im Verhältnis 1 : 10 tropfenweise verdünnt, in Probenröhrchen aus Plastik (3.1.8.2.) abgefüllt, im Wasserbad belassen und in einen Kühlschrank gebracht, wo das verdünnte Sperma im Verlauf von 2,5 Stunden auf + 5° C abkühlte. Bei dieser Temperatur verblieben die

Proben für insgesamt 72 Stunden im Kühlschrank.

3.1.10.3. Untersuchung des verdünnten Spermas

Für jeden Untersuchungsabschnitt wurden je 0,3 ml verdünntes Sperma den entsprechenden Probenröhrchen entnommen, in Eppendorf-Reaktionsgefäße pipettiert und gemäß Abschnitt 3.1.5.3.1. untersucht.

3.1.11. Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma (Übersicht 6)

3.1.11.1. Versuchsanordnung

3.1.11.1.1. pH-Wert

Von 3 Ziegenböcken wurden je 5 Ejakulate mit einem Tris-Verdünner, der seinen herkömmlichen pH-Wert und auch den eines Raffinose-Verdünners besaß, verdünnt. Die Konservierung weiterer 15 Ejakulate erfolgte mit einem Raffinose-Verdünner (Original-pH-Wert und pH-Wert des Tris-Verdünners).

3.1.11.1.2. Osmolalität

15 Ejakulate wurden mit dem Tris-Verdünner sowohl mit dessen originaler Osmolalität als auch mit der Osmolalität des Raffinose-Verdünners konserviert. Weitere 15 Ejakulate wurden dann mit dem Raffinose-Verdünner (Original-Osmolalität bzw. Osmolalität des Tris-Verdünners) tiefgefroren.

3.1.11.2. Verdünnung und Aufbewahrung des Ziegenbockspermas

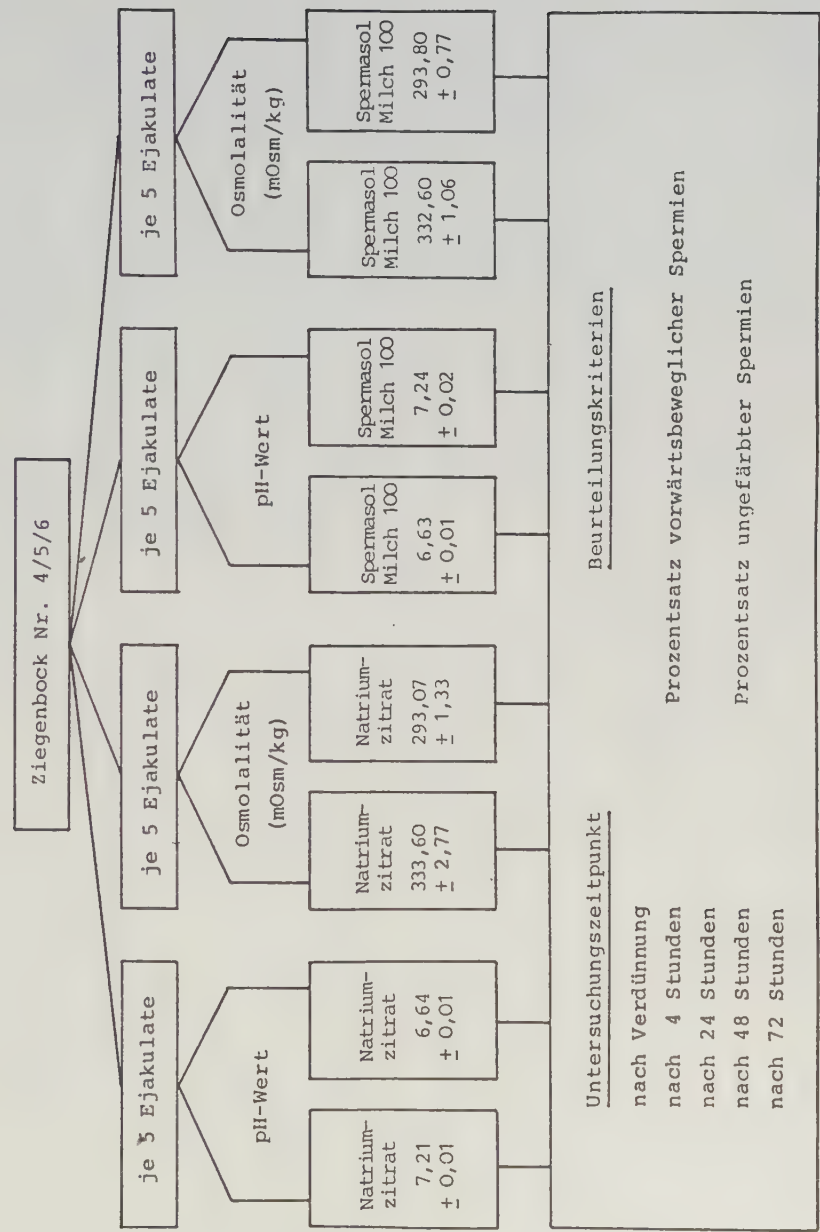
Die gewonnenen Ejakulate und die Verdünnerproben wurden in einem Wasserbad von $+ 32^{\circ}\text{C}$ auf gleiche Temperatur gebracht. Nach der Untersuchung des Nativspermas (3.1.5.2.) erfolgten Verdünnung im Verhältnis 1 : 8 und Abfüllung in 0,5 ml-Pailletten nach CASSOU. Die Pailletten verblieben im Wasserbad und kamen in einen Kühltisch, wo das verdünnte Sperma im Verlauf von 2,5 Stunden auf $+ 5^{\circ}\text{C}$ abgekühlt wurde. Anschließend verblieben die Spermaproben für weitere 2,5 Stunden im Kühltisch bei dieser Temperatur.

Danach wurden die Pailletten auf einem Metallnetz horizontal in Stickstoffdampf 4 cm über dem Spiegel von flüssigem Stickstoff innerhalb von 15 bis 20 Minuten eingefroren und anschließend in flüssigem Stickstoff bei einer Temperatur von $- 196^{\circ}\text{C}$ gelagert. Das Auftauen der Pailletten erfolgte in einem Wasserbad von $+ 38^{\circ}\text{C}$ innerhalb von 15 Sekunden.

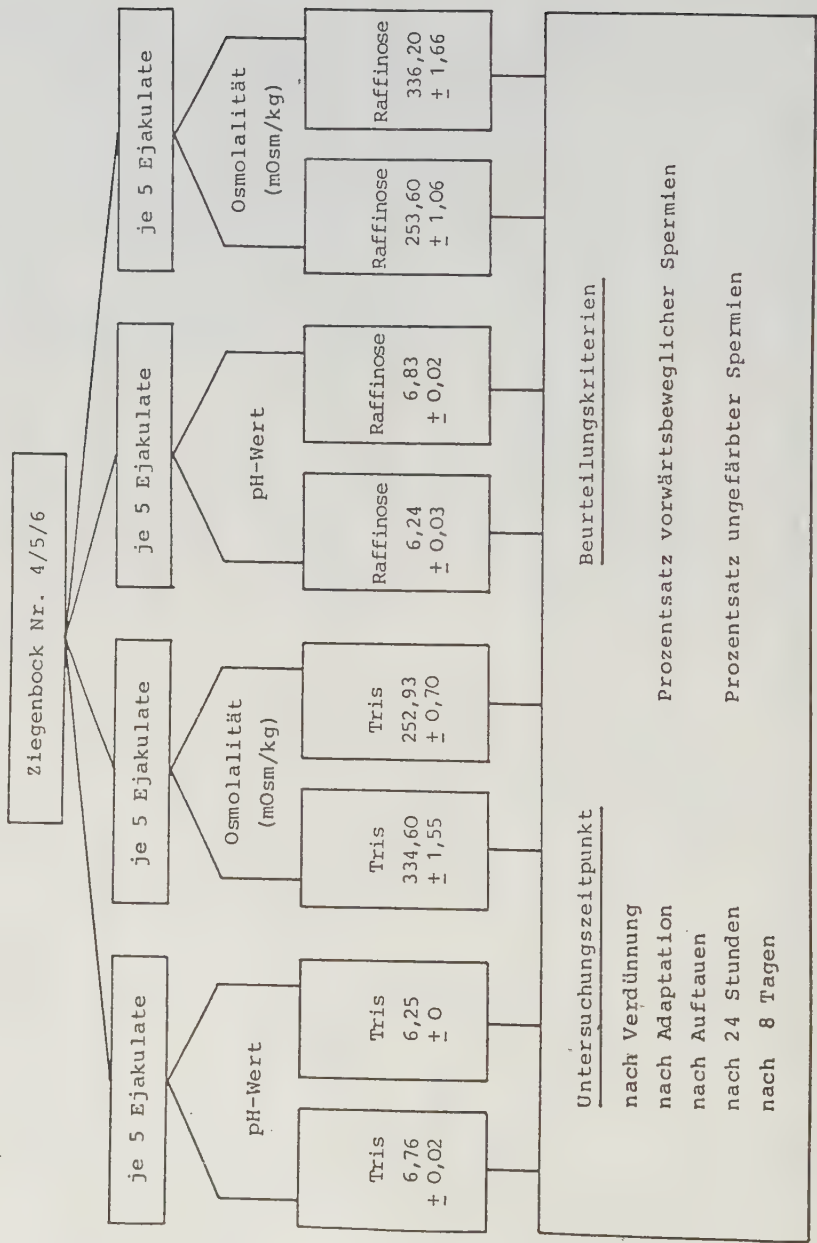
3.1.11.3. Untersuchung des verdünnten Spermas

Unmittelbar nach dem Auftauen kamen die Proben in Eppendorf-Reaktionsgefäße und wurden wie in Abschnitt 3.1.5.3.2. beschrieben untersucht.

Übersicht 5: Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma (schematischer Versuchsaufbau)



Übersicht 6: Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma (schematischer Versuchsaufbau)



3.2. Ergebnisse

3.2.1. Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma

Die für die Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung gewonnenen unverdünnten Bullenejakulate erfüllten alle in der andrologischen Praxis üblichen Mindestanforderungen. Die Parameter, die auch in den Konservierungsversuchen als Beurteilungskriterien verwendet wurden, sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tab. 6: Ausgewählte Parameter in unverdünnten Bullenejakulaten für die Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung
(3 Bullen, je 20 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Tier	Vorwärts- bewegl. Spermien (%)	Ungefärbte Spermien (%)	pH	Osmolalität (mOsm/kg)
A	74,7 $\pm 4,43$	77,3 $\pm 5,87$	6,62 $\pm 0,14$	300,25 $\pm 7,39$
B	70,5 $\pm 4,84$	71,9 $\pm 6,80$	6,61 $\pm 0,08$	301,95 $\pm 10,81$
C	69,5 $\pm 3,94$	74,2 $\pm 8,38$	6,63 $\pm 0,16$	293,85 $\pm 8,03$

3.2.1.1. Untersuchungen mit einem Triladyl^R - Verdünner
und einem Laktose - Verdünner mit originalem
pH - Wert und verändertem pH - Wert

Im Triladyl^R-Verdünner mit dem niedrigen pH-Wert von 5,85 ist ein deutlich geringerer Prozentsatz vorwärtsbeweglicher als auch ungefärbter Spermien zu erkennen als im gleichen Verdünner mit seinem originalen pH-Wert von 6,64. Allerdings trifft dies nicht für das frisch verdünnte Sperma zu. In diesem ist der Anteil vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien bei dem niedrigeren pH-Wert um ein geringes größer als bei höherem pH-Wert (siehe Tab. 7).

Tab. 7: Einfluß der Veränderung des pH-Wertes eines Triladyl^R-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Bullensperma
(3 Bullen, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungs- zeitpunkt	pH-Wert	
		6,64 $\pm$ 0,05	5,85 $\pm$ 0,04
Vorwärtsbewgl. Spermien (%)	n. Verdünnung	69,0 $\pm$ 7,37	69,6 $\pm$ 7,90
	n. Adaptation	65,0 $\pm$ 5,35	60,6 $\pm$ 8,84
	n. Auftauen	56,0 $\pm$ 5,07	46,6 $\pm$ 6,73
	n. 24 Std.	51,0 $\pm$ 3,87	40,6 $\pm$ 4,95
	n. 8 Tagen	47,6 $\pm$ 4,17	33,6 $\pm$ 5,16
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	73,8 $\pm$ 6,61	76,4 $\pm$ 9,94
	n. Adaptation	69,4 $\pm$ 5,94	65,7 $\pm$ 12,62
	n. Auftauen	60,6 $\pm$ 4,07	52,1 $\pm$ 7,94
	n. 24 Std.	55,4 $\pm$ 4,39	43,4 $\pm$ 8,30
	n. 8 Tagen	53,0 $\pm$ 3,54	41,3 $\pm$ 8,71

Der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien beträgt in Proben, die unmittelbar nach dem Einfrieren wieder aufgetaut wurden, bei Verwendung des Triladyl^R-Verdünners 56,0% bei einem pH-Wert von 6,64 und 46,6%, also fast 10% weniger, bei einem pH-Wert von 5,85. Im Laufe einer 8-tägigen Lagerung des verdünnten Spermas bei -196°C in flüssigem Stickstoff sinkt der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien bei einem pH-Wert von 6,64 auf 47,6% und bei einem pH-Wert von 5,85 auf 33,6% ab.

Bei einem pH-Wert von 6,64 beträgt der Anteil ungefärbter Spermien unmittelbar vor dem Einfrieren 69,4% und nach dem Auftauen 60,6%. Für den pH-Wert von 5,85 liegen die entsprechenden Werte bei 65,7 bzw. 52,1%. Unmittelbar nach dem Einfrieren sinkt bei einem pH-Wert von 6,64 der Prozentsatz ungefärbter Spermien auf 60,6 und nach 8 Tagen auf 53,0 ab. Bei dem pH-Wert von 5,85 beträgt der Anteil ungefärbter Spermien unmittelbar nach dem Einfrieren 52,1% und sinkt innerhalb von 8 Tagen auf 41,3% ab.

Im Laktose-Verdünnern ist bezüglich der Erhaltung von Spermienmotilität und -vitalität eine geringgradige Überlegenheit des höheren pH-Wertes festzustellen (siehe Tab. 8).

Tab. 8: Einfluß der Veränderung des pH-Wertes eines Laktose-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Bullensperma
(3 Bullen, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungs- zeitpunkt	pH-Wert	
		5,87 $\pm$ 0,06	6,65 $\pm$ 0,03
Vorwärtsbewgl. Spermien (%)	n. Verdünnung	68,3 $\pm$ 5,56	70,3 $\pm$ 6,40
	n. Adaptation	64,0 $\pm$ 4,31	66,0 $\pm$ 7,84
	n. Auftauen	53,3 $\pm$ 5,23	52,6 $\pm$ 8,63
	n. 24 Std.	46,0 $\pm$ 6,32	47,6 $\pm$ 8,63
	n. 8 Tagen	42,0 $\pm$ 5,92	44,6 $\pm$ 6,67
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	73,5 $\pm$ 2,63	76,6 $\pm$ 5,04
	n. Adaptation	70,2 $\pm$ 5,42	75,3 $\pm$ 8,21
	n. Auftauen	61,9 $\pm$ 5,38	63,3 $\pm$ 9,21
	n. 24 Std.	53,9 $\pm$ 8,90	54,3 $\pm$ 10,78
	n. 8 Tagen	50,2 $\pm$ 5,47	51,1 $\pm$ 10,27

Unmittelbar nach dem Einfrieren sinkt bei einem pH-Wert von 6,65 der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien auf 52,6 % im Vergleich zu 66,0 % vor dem Einfrieren ab und erfährt während einer 8-tägigen Lagerung des verdünnten Spermas in flüssigem Stickstoff einen weiteren Rückgang auf 44,6%.

Bei einem pH-Wert von 5,87 betragen die entsprechenden Werte vor dem Einfrieren 64,0 %, nach dem Einfrieren 53,3 % und 42,0 % nach 8 Tagen.

Der Prozentsatz ungefärbter Spermien geht bei einem pH-Wert von 6,65 von 75,3% vor dem Einfrieren auf 63,3% nach dem Einfrieren zurück und sinkt während einer 8-tägigen Lagerung des verdünnten Spermas in flüssigem Stickstoff auf 51,1% ab. Bei einem pH-Wert des Laktose-Verdünners von 5,87 dagegen beträgt der Prozentsatz ungefärbter Spermien vor dem Einfrieren 70,2, unmittelbar nach dem Einfrieren 61,9 und nach 8 Tagen noch 50,2.

3.2.1.2. Untersuchungen mit einem Triladyl^R - Verdünner und einem Laktose - Verdünner mit originaler Osmolalität und veränderter Osmolalität

Im Triladyl^R-Verdünner mit einer Osmolalität von 419,67 mOsm/kg ist der Anteil vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien während des gesamten Untersuchungszeitraumes höher als bei einer Osmolalität von 322,87 mOsm/kg (siehe Tab. 9).

Tab. 9: Einfluß der Veränderung der Osmolalität eines Triladyl^R-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Bullensperma (3 Bullen, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungs- zeitpunkt	Osmolalität (mOsm/kg)	
		419,67 $\pm$ 4,29	322,87 $\pm$ 4,47
Vorwärtsbewgl. Spermien (%)	n. Verdünnung	66,3 $\pm$ 4,42	65,3 $\pm$ 3,99
	n. Adaptation	65,0 $\pm$ 5,0	60,6 $\pm$ 4,17
	n. Auftauen	53,0 $\pm$ 3,16	50,0 $\pm$ 3,78
	n. 24 Std.	50,0 $\pm$ 3,78	47,6 $\pm$ 4,17
	n. 8 Tagen	46,3 $\pm$ 3,52	44,3 $\pm$ 3,72
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	74,2 $\pm$ 5,94	73,6 $\pm$ 5,30
	n. Adaptation	71,4 $\pm$ 6,66	69,0 $\pm$ 5,43
	n. Auftauen	61,8 $\pm$ 4,77	58,6 $\pm$ 4,25
	n. 24 Std.	58,2 $\pm$ 4,84	55,6 $\pm$ 3,75
	n. 8 Tagen	54,4 $\pm$ 4,55	51,4 $\pm$ 4,06

Unmittelbar nach dem Einfrieren zeigen bei der höheren Osmolalität 53,0% der Spermien eine Vorwärtsbewegung gegenüber 50,0% bei geringerer Osmolalität. Im Verlauf einer 8-tägigen Lagerung des verdünnten Spermas sinkt der Anteil der vorwärtsbeweglichen Spermien auf 46,3% bei höherer und auf 44,3% bei niedrigerer Osmolalität ab.

Der Prozentsatz ungefärbter Spermien beträgt unmittelbar nach dem Einfrieren im Verdünner mit höherer Osmolalität 61,8, verglichen mit 58,6 bei niedrigerer Osmolalität. Nach 8 Tagen betragen die entsprechenden Werte 54,4 bzw. 51,4%.

Ähnlich wie im Triladyl^R-Verdünnern ist auch im Laktose-Verdünnern bei höherer Osmolalität der Anteil vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien größer als bei der niedrigeren Osmolalität (siehe Tab. 10).

Tab. 10: Einfluß der Veränderung der Osmolalität eines Laktose-Verdünnern auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Bullensperma
(3 Bullen, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungs- zeitpunkt	Osmolalität (mOsm/kg)	
		322,13 $\pm$ 3,98	423,07 $\pm$ 4,13
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	n. Verdünnung	67,3 $\pm$ 4,17	68,0 $\pm$ 4,93
	n. Adaptation	65,3 $\pm$ 5,50	68,0 $\pm$ 4,14
	n. Auftauen	51,0 $\pm$ 2,80	55,3 $\pm$ 2,97
	n. 24 Std.	46,3 $\pm$ 2,97	50,0 $\pm$ 3,27
	n. 8 Tagen	43,3 $\pm$ 2,44	47,0 $\pm$ 3,16
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	73,2 $\pm$ 5,86	73,8 $\pm$ 5,09
	n. Adaptation	70,9 $\pm$ 5,38	72,7 $\pm$ 4,63
	n. Auftauen	60,9 $\pm$ 3,70	64,3 $\pm$ 4,53
	n. 24 Std.	55,9 $\pm$ 3,54	59,0 $\pm$ 3,21
	n. 8 Tagen	52,5 $\pm$ 2,98	55,5 $\pm$ 3,83

Die Maximalwerte der Differenz zugunsten des Verdünnern mit höherer Osmolalität betragen für den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien 4,3% und für den Anteil ungefärbter Spermien 3,4%.

3.2.2. Flüssigkonservierung, von Schafbocksperma

Die bei der routinemäßigen Untersuchung des Nativspermas ermittelten Werte lagen alle im physiologischen Bereich. Für ausgewählte Parameter der Nativejakulate, die auch in den folgenden Untersuchungen als Beurteilungskriterien dienten, sind die ermittelten Werte in Tabelle 11 dargestellt.

Tab. 11: Ausgewählte Parameter in unverdünnten Schafbock-ejakulaten für die Untersuchungen zur Flüssigkonservierung (3 Schafböcke, je 20 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Tier	Vorwärts- bewegl. Spermien (%)	Ungefärbte Spermien (%)	pH	Osmolalität (mOsm/kg)
A	71,7 $\pm 9,77$	73,8 $\pm 12,12$	6,33 $\pm 0,29$	334,65 $\pm 20,69$
B	73,0 $\pm 6,77$	77,4 $\pm 9,24$	6,04 $\pm 0,15$	329,0 $\pm 14,41$
C	72,7 $\pm 6,97$	75,8 $\pm 8,89$	6,26 $\pm 0,29$	336,40 $\pm 19,79$

3.2.2.1. Untersuchungen mit einem Natriumzitat - Verdünner und einem Glukose - Phosphat - Verdünner mit originalem pH - Wert und verändertem pH - Wert

Unmittelbar nach der Verdünnung mit dem Natriumzitat-Verdünner war der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien bei beiden pH-Werten niedriger als in den Nativejakulaten. Bei einem pH-Wert von 6,31 wiesen die beurteilten Parameter über den gesamten Untersuchungszeitraum von 72 Stunden hinweg durchwegs niedrigere Werte auf als bei dem höheren pH-Wert von 7,10 (siehe Tab. 12).

Tab. 12: Einfluß der Veränderung des pH-Wertes eines Natriumzitat-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in flüssigkonserviertem Schafbocksperma (3 Schafböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Lagerungszeit (Stunden)	pH-Wert	
		7,10 $\pm$ 0,002	6,31 $\pm$ 0,004
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	0	68,6 $\pm$ 7,90	67,3 $\pm$ 6,78
	4	67,6 $\pm$ 8,84	65,3 $\pm$ 7,67
	24	61,0 $\pm$ 8,90	58,6 $\pm$ 8,55
	48	54,0 $\pm$ 9,12	44,3 $\pm$ 11,78
	72	46,3 $\pm$ 10,26	33,3 $\pm$ 12,34
Ungefärbte Spermien (%)	0	71,3 $\pm$ 7,62	71,7 $\pm$ 8,63
	4	71,9 $\pm$ 11,24	69,2 $\pm$ 10,44
	24	65,7 $\pm$ 13,67	63,2 $\pm$ 12,60
	48	60,5 $\pm$ 16,95	52,2 $\pm$ 15,63
	72	55,7 $\pm$ 12,68	44,2 $\pm$ 14,78

Während unmittelbar nach der Verdünnung im Natriumzitat-Medium mit einem pH-Wert von 6,31 ein um durchschnittlich 1,3% geringerer Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien zu verzeichnen war als bei einem pH-Wert von 7,1, unterschied sich der Prozentsatz ungefärbter Spermien unmittelbar nach der Verdünnung bei beiden pH-Werten nur um 0,4% zugunsten des niedrigeren pH-Wertes.

Im Verlauf einer 72-stündigen Lagerung des verdünnten Spermas bei + 5°C sank der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien im Natriumzitat-Verdünner bei einem pH-Wert von 7,10 von 68,6% unmittelbar nach der Verdünnung auf 46,3% nach 72-stündiger Aufbewahrung ab. Bei einem pH-Wert von 6,31 betrugen die entsprechenden Werte 67,3 bzw. 33,3%. Es kommt also nach 72 Stunden bei einem pH-Wert von 6,31 zu einem deutlicheren Motilitätsverlust der Spermien als bei einem pH-Wert von 7,10, verglichen mit der Ausgangsmotilität.

Ähnliches gilt auch für den Prozentsatz ungefärbter Spermien. Auch hier sind nach 72 Stunden bei einem pH-Wert von 6,31 wesentlich geringere Werte zu erhalten als bei einem pH-Wert von 7,10 (44,2 bzw. 55,7%), verglichen mit fast identischen Ausgangswerten von 71,7 bzw. 71,3%.

In Tabelle 13 sind die Auswirkungen der pH-Änderung in einem Glukose-Phosphat-Verdünner dargestellt. Unabhängig vom pH-Wert ist zu beachten, daß es in diesem Verdünner bereits ab einer 24-stündigen Lagerung des Spermas bei + 5°C zu einem erheblichen Rückgang der Spermienmotilität kommt. Nach 24 Stunden zeigen noch 16,0% (pH 7,18) bzw. 24,6% (pH 6,32) der Spermien eine Vorwärtsbewegung; nach 72 Stunden liegen die entsprechenden Werte bei 3,6 bzw. 2,3%.

Tab. 13: Einfluß der Veränderung des pH-Wertes eines Glukose-Phosphat-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in flüssigkonserviertem Schafbock-sperma

(3 Schafböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Lagerungszeit (Stunden)	pH-Wert	
		6,32 $\pm$ 0,04	7,18 $\pm$ 0,02
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	0	73,0 $\pm$ 5,61	66,0 $\pm$ 8,06
	4	63,6 $\pm$ 10,60	49,0 $\pm$ 11,21
	24	24,6 $\pm$ 7,67	16,0 $\pm$ 9,86
	48	8,6 $\pm$ 5,16	6,0 $\pm$ 2,07
	72	2,3 $\pm$ 2,58	3,6 $\pm$ 2,29
Ungefärbte Spermien (%)	0	78,9 $\pm$ 11,02	68,7 $\pm$ 11,43
	4	67,2 $\pm$ 13,31	44,7 $\pm$ 11,02
	24	42,2 $\pm$ 11,65	31,3 $\pm$ 9,89
	48	33,3 $\pm$ 8,14	18,6 $\pm$ 5,41
	72	25,4 $\pm$ 4,88	13,9 $\pm$ 4,77

Verglichen mit dem Natriumzitrat-Verdünnern ist jedoch aus obiger Tabelle ersichtlich, daß sowohl der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher als auch der Prozentsatz ungefärbter Spermien im Glukose-Phosphat-Verdünnern sich bei den beiden pH-Werten genau umgekehrt verhalten als im Zitrat-Verdünnern. Beide erwähnten Parameter liegen bei einem höheren pH-Wert (7,18) deutlich unter den bei einem pH von 6,32 ermittelten Werten. Dies gilt für den gesamten Untersuchungszeitraum von 72 Stunden.

Unmittelbar nach der Verdünnung liegt der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien im Glukose-Phosphat-Verdünnern mit einem pH-Wert von 7,18 um 7 % niedriger als bei einem pH-Wert von 6,32 ,

der Prozentsatz ungefärbter Spermien sogar um 10,2%. Nach 4 Stunden beträgt diese Differenz für beide Beurteilungskriterien bereits mehr als das Doppelte, nämlich 14,6 und 22,5.

Während sich nach 48- und 72-stündiger Lagerung des verdünnten Spermas die Werte für die Vorwärtsbeweglichkeit der Spermien im Glukose-Phosphat-Verdüner mit einem pH-Wert von 7,18 bzw. 6,32 annähern, liegt der Prozentsatz ungefärbter Spermien nach dieser Lagerungsdauer bei einem pH-Wert von 7,18 um knapp die Hälfte niedriger (18,6% nach 48 Stunden und 13,9% nach 72 Stunden) als bei einem pH-Wert von 6,32 (33,3% nach 48 Stunden und 25,4% nach 72 Stunden).

3.2.2.2. Untersuchungen mit einem Natriumzitat-Verdüner und einem Glukose-Phosphat-Verdüner mit originaler Osmolalität und veränderter Osmolalität

Im Natriumzitat-Verdüner mit der höheren Osmolalität von 373,47 mOsm/kg liegt der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien während des gesamten Untersuchungszeitraumes deutlich unter den Werten bei niedrigerer Osmolalität von 256,53 mOsm/kg (siehe Tab. 14).

Tab. 14: Einfluß der Veränderung der Osmolalität eines Natriumzitrat-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in flüssigkonserviertem Schafbocksperma (3 Schafböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Lagerungszeit (Stunden)	Osmolalität (mosm/kg)	
		256,53 $\pm$ 2,80	373,47 $\pm$ 3,27
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	0	77,0 $\pm$ 6,76	69,3 $\pm$ 5,94
	4	74,3 $\pm$ 7,53	65,6 $\pm$ 7,99
	24	69,6 $\pm$ 9,54	62,0 $\pm$ 8,19
	48	63,6 $\pm$ 8,34	49,6 $\pm$ 10,93
	72	52,6 $\pm$ 9,61	38,6 $\pm$ 11,87
Ungefärbte Spermien (%)	0	77,6 $\pm$ 8,08	74,4 $\pm$ 10,12
	4	72,1 $\pm$ 12,97	67,4 $\pm$ 11,80
	24	64,5 $\pm$ 14,28	61,0 $\pm$ 12,62
	48	59,6 $\pm$ 14,26	54,9 $\pm$ 14,61
	72	51,7 $\pm$ 14,40	45,2 $\pm$ 13,57

Besonders deutlich wird dieser Unterschied nach 48- und 72-stündiger Lagerung des verdünnten Spermas bei + 5° C. Hier beträgt die Differenz der Vorwärtsbeweglichkeit bei beiden Osmolalitäts-werten zu beiden genannten Untersuchungszeitpunkten 14 %.

Im Natriumzitrat-Verdünnern mit 256,53 mOsm/kg sinkt der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien von einem Ausgangswert unmittelbar nach der Verdünnung von 77,0% auf 52,6% nach 72-stündiger Lagerung ab, was noch 68,3% des Ausgangswertes entspricht. Bei einer Osmolalität von 373,47 mOsm/kg dagegen beträgt der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien nach 72 Stunden nur noch 38,6, was 55,7% des Ausgangswertes von 69,3% entspricht.

Anhand des Prozentsatzes ungefärbter Spermien ist der Unterschied zwischen beiden Osmolalitäten des Natriumzitrats-Verdünners weniger augenfällig (siehe Tab. 14). Bei einer Osmolalität von 256,53 mOsm/kg sinkt der Anteil ungefärbter Spermien von 77,6% unmittelbar nach der Verdünnung auf 51,7% nach 72 Stunden ab, was 66,6% des Ausgangswertes entspricht. Bei einer Osmolalität von 373,47 mOsm/kg dagegen kommt es zu einem Rückgang des Prozentsatzes ungefärbter Spermien von 74,4 nach der Verdünnung auf 45,2 nach 72 Stunden. Dies entspricht noch 60,7% des Ausgangswertes.

Im Glukose-Phosphat-Verdünnern ist der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien unmittelbar nach der Verdünnung sowie auch nach 4-stündiger Lagerung des verdünnten Spermas bei + 5°C bei beiden Osmolalitäten annähernd identisch. Nach 24-stündiger Lagerung liegt der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien bei 258,0 mOsm/kg bei 41,3, bei einer Osmolalität von 367,80 mOsm/kg dagegen nur bei 25,6% (siehe Tab. 15).

Tab. 15: Einfluß der Veränderung der Osmolalität eines Glukose-Phosphat-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in flüssigkonserviertem Schafbocksperma (3 Schafböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Lagerungszeit (Stunden)	Osmolalität (mosm/kg)	
		367,80 $\pm$ 3,61	258,0 $\pm$ 1,73
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	0	74,6 $\pm$ 3,99	71,3 $\pm$ 8,96
	4	63,3 $\pm$ 7,72	63,3 $\pm$ 8,38
	24	25,6 $\pm$ 7,76	41,3 $\pm$ 12,88
	48	11,0 $\pm$ 2,80	14,3 $\pm$ 7,99
	72	4,0 $\pm$ 3,38	4,6 $\pm$ 4,42
Ungefärbte Spermien (%)	0	75,5 $\pm$ 6,91	81,9 $\pm$ 5,93
	4	74,0 $\pm$ 7,39	70,3 $\pm$ 9,22
	24	48,8 $\pm$ 9,41	56,7 $\pm$ 11,79
	48	28,0 $\pm$ 11,02	30,2 $\pm$ 15,81
	72	22,5 $\pm$ 8,48	21,9 $\pm$ 12,90

Nach 48- und 72-stündiger Lagerung ist dieser Motilitätsunterschied bei beiden osmotischen Drucken wieder nahezu ausgeglichen, obwohl noch eine geringe Überlegenheit des Verdünners mit geringerer Osmolalität festzustellen ist.

Auch der Prozentsatz ungefärbter Spermien verhält sich im Glukose-Phosphat-Verdünnern bei beiden Osmolalitäten nicht einheitlich (siehe Tab. 15). Während unmittelbar nach der Verdünnung bei einer Osmolalität von 258,0 mOsm/kg 81,9% der Spermien ungefärbt sind, beträgt dieser Prozentsatz bei einer Osmolalität von 367,80 mOsm/kg 75,5. Nach 4 Stunden ist eine geringfügige Überlegenheit des Verdünners mit höherer Osmolalität festzustellen,

während nach 24 und 48 Stunden bei einer Osmolalität von 258,0 mOsm/kg noch 56,7 bzw. 30,2% der Spermien ungefärbt sind. Die entsprechenden Werte für die Osmolalität von 367,80 mOsm/kg betragen 48,8 und 28,0%. Nach 72 Stunden ist in beiden Meßbereichen nur noch eine Differenz von 0,6% zugunsten des Verdünners mit der höheren Osmolalität festzustellen.

3.2.3. Tiefgefrierkonservierung von Schafbock sperma

Die für die Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung gewonnenen Nativejakulate von 3 Schafböcken erfüllten die üblichen spermatologischen Mindestanforderungen.

In Tabelle 16 sind diejenigen Spermaparameter dargestellt, die auch in den Verdünnungsversuchen als Beurteilungskriterien dienen.

Tab. 16: Ausgewählte Parameter in unverdünnten Schafbockejakulaten für die Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung (3 Schafböcke, je 20 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Tier	Vorwärts- bewegl. Spermien (%)	Ungefärbte Spermien (%)	pH	Osmolalität (mOsm/kg)
A	79,5 $\pm 2,76$	81,4 $\pm 4,80$	6,53 $\pm 0,16$	328,85 $\pm 7,87$
B'	78,0 $\pm 4,70$	86,0 $\pm 3,78$	6,58 $\pm 0,23$	319,80 $\pm 10,66$
C	79,5 $\pm 4,26$	81,9 $\pm 6,72$	6,51 $\pm 0,17$	325,55 $\pm 9,06$

3.2.3.1. Untersuchungen mit einem Magermilch - Verdünner und einem TEST - M/OEP - Verdünner mit originalem pH - Wert und verändertem pH - Wert

Im Magermilch-Verdünner mit einem pH-Wert von 6,52 bzw. 7,23 sind sowohl der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher als auch ungefärbter Spermien während des gesamten Untersuchungszeitraumes nahezu identisch (siehe Tab. 17). Der Unterschied im Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien - sofern überhaupt ein solcher festzustellen ist - beträgt zwischen beiden pH-Werten 0,3%.

Tab. 17: Einfluß der Veränderung des pH-Wertes eines Magermilch-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Schafbocksperma
(3 Schafböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungs- zeitpunkt	pH-Wert	
		6,52 $\pm$ 0,03	7,23 $\pm$ 0,02
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	n. Verdünnung	75,6 $\pm$ 5,63	76,0 $\pm$ 0,02
	n. Adaptation	77,3 $\pm$ 4,95	77,0 $\pm$ 4,55
	n. Auftauen	56,0 $\pm$ 4,31	56,3 $\pm$ 3,99
	n. 24 Std.	50,6 $\pm$ 4,58	50,6 $\pm$ 4,17
	n. 8 Tagen	46,6 $\pm$ 4,08	46,6 $\pm$ 4,88
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	82,4 $\pm$ 7,75	80,6 $\pm$ 9,47
	n. Adaptation	79,2 $\pm$ 7,43	80,9 $\pm$ 8,28
	n. Auftauen	50,1 $\pm$ 7,73	49,7 $\pm$ 6,53
	n. 24 Std.	45,8 $\pm$ 4,61	48,1 $\pm$ 6,50
	n. 8 Tagen	44,3 $\pm$ 6,49	45,3 $\pm$ 6,53

Nach der Adaptation ist bei beiden pH-Werten eine geringgradige Verbesserung der Spermienmotilität von 77,3 bzw. 77,0% gegenüber den entsprechenden Werten von 75,6 bzw. 76,0% unmittelbar nach der Verdünnung zu verzeichnen. Nach dem Auftauen sinkt der Prozentsatz motiler Spermien bei einem pH-Wert von 6,52 auf 56,0 und bei einem pH-Wert von 7,23 auf 56,3% ab. Während einer 8-tägigen Lagerung des verdünnten Spermas bei - 196°C in flüssigem Stickstoff ist ein weiterer Motilitätsverlust von 9,3% (pH 6,52) bzw. 9,6% (pH 7,23) zu beobachten.

Auch bezüglich des Anteils ungefärbter Spermien sind zwischen beiden angewandten pH-Werten des Magermilch-Verdünners nur geringfügige Unterschiede festzustellen. Nach dem Auftauen sinkt bei einem pH-Wert von 6,52 der Prozentsatz ungefärbter Spermien auf 50,2 gegenüber 82,4 nach der Verdünnung ab, bei einem pH-Wert von 7,23 auf 49,7 gegenüber 80,6 nach der Verdünnung.

Nach Auftauen von 8 Tage in flüssigem Stickstoff gelager-tem Sperma geht der Anteil ungefärbter Spermien bei einem pH-Wert von 6,52 um weitere 5,8% auf 44,3%, bei einem pH-Wert von 7,23 um 4,4% auf 45,3% zurück.

Bei der Beurteilung der Auswirkungen zweier verschiedener pH-Werte im TEST-M/OEP-Verdünnern fällt eine geringgradige Überlegenheit des Verdünners mit dem höheren pH-Wert von 7,23 verglichen mit 6,54 auf (siehe Tab. 18).

Tab. 18: Einfluß der Veränderung des pH-Wertes eines TEST - M/OEP - Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Schafbocksperma
(3 Schafböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungs- zeitpunkt	pH-Wert	
		7,23 $\pm$ 0,02	6,54 $\pm$ 0,02
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	n. Verdünnung	76,3 $\pm$ 4,42	74,0 $\pm$ 5,07
	n. Adaptation	76,0 $\pm$ 5,07	76,0 $\pm$ 5,73
	n. Auftauen	55,3 $\pm$ 3,52	52,0 $\pm$ 4,93
	n. 24 Std.	51,6 $\pm$ 4,08	47,3 $\pm$ 4,58
	n. 8 Tagen	50,3 $\pm$ 3,99	47,0 $\pm$ 4,93
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	84,9 $\pm$ 3,41	82,7 $\pm$ 4,67
	n. Adaptation	76,6 $\pm$ 8,37	75,2 $\pm$ 7,47
	n. Auftauen	55,4 $\pm$ 8,13	53,2 $\pm$ 8,03
	n. 24 Std.	53,6 $\pm$ 11,16	51,7 $\pm$ 7,17
	n. 8 Tagen	53,9 $\pm$ 9,59	51,1 $\pm$ 9,78

Nach der Verdünnung zeigen bei einem pH-Wert von 7,23 76,3% der Spermien eine Vorwärtsbewegung, bei einem pH-Wert von 6,54 noch 74,0%. Nach der Adaptation beträgt der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien bei beiden pH-Werten 76,0. Nach dem Auftauen sinkt der Anteil motiler Spermien auf 55,3% (pH 7,23) bzw. 52,0% (pH 6,54) ab. Nach 8-tägiger Lagerung des verdünnten Samens in flüssigem Stickstoff kommt es bei beiden pH-Werten zu einem weiteren Rückgang des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien um je 5%.

Betrachtet man nun den Prozentsatz ungefärbter Spermien, so bleibt festzustellen, daß es nach der Adaptation zu einem Rückgang von 8,3% (pH 7,23) bzw. 7,4% (pH 6,54) kommt. Nach dem Auftauen beträgt der Prozentsatz ungefärbter Spermien bei einem pH-Wert von 7,23 55,4 und bei dem niedrigeren pH-Wert von 6,54 noch 53,2. Diese Differenz zu den entsprechenden Werten unmittelbar nach der Verdünnung beträgt in beiden Fällen 29,5%.

Beträgt der pH-Wert des Verdünners 7,23, so läßt sich nach dem Auftauen nach 8 Tagen ein weiterer Rückgang des Prozentsatzes ungefärbter Spermien von 1,5% auf einen Wert von 53,9% beobachten. Bei einem pH-Wert von 6,54 beträgt diese Differenz 2,1%.

3.2.3.2. Untersuchungen mit einem Magermilch - Verdünner und einem TEST - M/OEP - Verdünner mit originaler Osmolalität und veränderter Osmolalität

Im Magermilch-Verdünner mit zwei verschiedenen Osmolalitäten ist sowohl bei der Beurteilung des Prozentsatzes vorwärtsbeweglicher als auch ungefärbter Spermien eine leichte Überlegenheit des Verdünners mit dem höheren osmotischen Druck von 444,60 mOsm/kg feststellbar (siehe Tab. 19).

Tab. 19: Einfluß der Veränderung der Osmolalität eines Magermilch-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Schafbocksperma (3 Schafböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungs- zeitpunkt	Osmolalität (mosm/kg)	
		444,60 $\pm$ 3,50	325,20 $\pm$ 1,01
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	n. Verdünnung	76,3 $\pm$ 7,67	73,3 $\pm$ 5,56
	n. Adaptation	75,0 $\pm$ 5,67	70,6 $\pm$ 5,30
	n. Auftauen	52,6 $\pm$ 4,95	48,0 $\pm$ 4,55
	n. 24 Std.	48,0 $\pm$ 4,55	42,6 $\pm$ 3,72
	n. 8 Tagen	46,0 $\pm$ 4,71	40,3 $\pm$ 3,52
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	82,3 $\pm$ 7,39	82,9 $\pm$ 5,45
	n. Adaptation	78,5 $\pm$ 9,58	79,1 $\pm$ 8,53
	n. Auftauen	49,8 $\pm$ 10,99	46,5 $\pm$ 4,48
	n. 24 Std.	47,0 $\pm$ 8,22	41,6 $\pm$ 5,04
	n. 8 Tagen	46,8 $\pm$ 11,65	35,6 $\pm$ 4,73

Vor dem Einfrieren beträgt der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien bei einer Osmolalität von 444,60 mOsm/kg 75,0% und sinkt nach dem Einfrieren um 22,4% auf 52,6% ab. Im Verdünnern mit 325,20 mOsm/kg sinkt die Spermienmotilität von 70,6% vor dem Einfrieren auf 48,0% nach dem Einfrieren ab, was einer Differenz von 22,6% entspricht. Nach 8-tägiger Lagerung des Spermas in flüssigem Stickstoff geht die Spermienmotilität bei einer Osmolalität von 444,60 mOsm/kg um 6,6% auf einen Wert von 46,0% zurück, bei einer Osmolalität von 325,20 mOsm/kg um 7,7% auf 40,3%.

Während der Prozentsatz ungefärbter Spermien im Magermilch-Verdünner bei einer Osmolalität von 325,20 mOsm/kg nach der Verdünnung und nach der Adaptation des Spermas geringfügig höher ist als bei einer Osmolalität von 444,60 mOsm/kg, kommt es nach dem Auftauen sowie nach 24-stündiger und 8-tägiger Lagerung des Spermas zu einem deutlicheren Rückgang des Anteils ungefärbter Spermien bei der niedrigeren Osmolalität. So beträgt der Anteil ungefärbter Spermien bei 444,60 mOsm/kg unmittelbar nach dem Einfrieren 49,8% und nach 8-tägiger Lagerung des tiefgefrorenen Spermas noch 46,8%. Für eine Osmolalität von 325,20 mOsm/kg liegen die entsprechenden Werte bei 46,5 bzw. 35,6%.

Im TEST-M/OEP-Verdünner erweist sich eine Osmolalität von 328,0 mOsm/kg anhand beider beurteilten Parameter einer Osmolalität von 456,80 mOsm/kg als überlegen (siehe Tab. 20).

Tab. 20: Einfluß der Veränderung der Osmolalität eines TEST-M/OEP-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Schafbocksperma (3 Schafböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungs- zeitpunkt	Osmolalität (mosm/kg)	
		328,0 $\pm$ 2,54	456,80 $\pm$ 2,21
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	n. Verdünnung	76,3 $\pm$ 4,81	64,6 $\pm$ 6,11
	n. Adaptation	74,6 $\pm$ 6,40	58,3 $\pm$ 4,88
	n. Auftauen	55,0 $\pm$ 3,78	44,0 $\pm$ 6,60
	n. 24 Std.	52,6 $\pm$ 3,72	42,0 $\pm$ 5,61
	n. 8 Tagen	50,3 $\pm$ 4,42	39,6 $\pm$ 6,40
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	76,7 $\pm$ 9,89	77,7 $\pm$ 9,18
	n. Adaptation	71,6 $\pm$ 10,10	70,6 $\pm$ 9,76
	n. Auftauen	50,1 $\pm$ 8,93	45,0 $\pm$ 4,82
	n. 24 Std.	49,7 $\pm$ 8,15	45,6 $\pm$ 4,37
	n. 8 Tagen	48,0 $\pm$ 7,18	46,1 $\pm$ 5,29

Bereits nach der Verdünnung liegt der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien bei einer Osmolalität von 456,80 mOsm/kg um 11,7% unter dem Wert bei 328,0 mOsm/kg. Nach der Adaptation beträgt dieser Unterschied bereits 16,3% zugunsten der niedrigeren Osmolalität. Nach dem Auftauen sind bei einer Osmolalität von 328,0 mOsm/kg 55,0% der Spermien vorwärtsbeweglich, nur 44,0% dagegen bei der höheren Osmolalität. Nach 24-stündiger und 8-tägiger Lagerung beträgt die Differenz im Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien im Vergleich beider Osmolalitäten 10,6 bzw. 10,7%.

Geringer sind diese Unterschiede in der Auswirkung der beiden osmotischen Drucke, wenn man den Prozentsatz ungefärbter Spermien als Beurteilungskriterium heranzieht. Bei einer Osmolalität von 328,0 mOsm/kg beträgt der Prozentsatz ungefärbter Spermien nach dem Einfrieren 50,1, nach 24-stündiger Lagerung bei -196°C 49,7 und nach 8-tägiger Lagerung 48,0. Die entsprechenden Werte für eine Osmolalität von 456,80 mOsm/kg betragen 45,0 bzw. 45,6% sowie 46,1%. Verglichen mit Ausgangswerten unmittelbar nach der Verdünnung von 76,7% (328,0 mOsm/kg) und 77,7% (456,80 mOsm/kg) sinkt bei der niedrigeren Osmolalität der Anteil ungefärbter Spermien unmittelbar nach dem Einfrieren um 26,6% und nach 8 Tagen um 28,7% ab. Im Verdünner mit der höheren Osmolalität beträgt diese Differenz gegenüber dem Ausgangswert 32,7 bzw. 31,6%.

3.2.4. Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma

Die bei der routinemäßigen Untersuchung der Nativejakulate ermittelten Spermaparameter lagen im physiologischen Bereich. In Tabelle 21 sind diejenigen Spermaparameter dargestellt, die auch in den folgenden Versuchen als Beurteilungskriterien dienten.

Tab. 21: Ausgewählte Parameter in unverdünnten Ziegenbockejakulaten für die Untersuchungen zur Flüssigkonservierung (3 Ziegenböcke, je 20 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Tier	Vorwärts- bewegl. Spermien (%)	Ungefärbte Spermien (%)	pH	Osmolalität (mOsm/kg)
A	76,5 $\pm 4,62$	83,3 $\pm 5,04$	6,45 $\pm 0,17$	327,20 $\pm 6,36$
B	75,7 $\pm 6,34$	86,2 $\pm 4,94$	6,48 $\pm 0,17$	327,65 $\pm 5,18$
C	75,7 $\pm 5,68$	86,3 $\pm 4,08$	6,46 $\pm 0,11$	328,55 $\pm 7,24$

3.2.4.1. Untersuchungen mit einem Natriumzitat-Verdünner und einem Spermasol^R - Milch 100 - Verdünner mit originalem pH - Wert und verändertem pH - Wert

Im Natriumzitat-Verdünner mit einem pH-Wert von 7,21 war der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien während des gesamten Untersuchungszeitraumes höher als im gleichen Verdünner mit einem pH-Wert von 6,64 (siehe Tab. 22)

Tab. 22: Einfluß der Veränderung des pH-Wertes eines Natriumzitat-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in flüssigkonserviertem Ziegenbocksperma (3 Ziegenböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Lagerungszeit (Stunden)	pH-Wert	
		7,21 $\pm$ 0,01	6,64 $\pm$ 0,01
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	0	76,0 $\pm$ 3,87	77,0 $\pm$ 4,55
	4	78,6 $\pm$ 4,81	73,3 $\pm$ 8,80
	24	75,0 $\pm$ 5,35	67,6 $\pm$ 8,84
	48	69,7 $\pm$ 5,81	62,6 $\pm$ 9,23
	72	64,3 $\pm$ 7,53	57,3 $\pm$ 9,61
Ungefärbte Spermien (%)	0	87,1 $\pm$ 2,76	85,7 $\pm$ 3,15
	4	87,0 $\pm$ 3,45	85,7 $\pm$ 3,52
	24	86,6 $\pm$ 3,72	82,9 $\pm$ 3,50
	48	83,7 $\pm$ 2,53	80,0 $\pm$ 4,46
	72	79,9 $\pm$ 4,84	76,4 $\pm$ 5,51

Während einer 72-stündigen Lagerung des verdünnten Spermas bei + 5° C sank bei einem pH-Wert von 7,21 der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien von 76,0 % unmittelbar nach der Verdünnung

auf 64,3% nach 72 Stunden ab, Betrag der pH-Wert des Natriumzitrats-Verdünners dagegen 6,64, so nahm im gleichen Zeitraum der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien von 77,0 auf 57,3% ab.

Etwas geringer war der Unterschied in der Auswirkung der beiden pH-Werte, wenn man den Prozentsatz ungefärbter Spermien betrachtet. Dieser nahm bei einem pH-Wert von 7,21 von 87,1% nach der Verdünnung auf 79,9% nach 72 Stunden ab. Bei einem pH-Wert von 6,64 betrugen die entsprechenden Werte 85,7 bzw. 76,4%.

Beim Spermasol^R-Milch 100-Verdünnern war der Einfluß der beiden unterschiedlichen pH-Werte während des Untersuchungszeitraumes auf die beurteilten Spermaparameter nicht einheitlich (siehe Tab. 23). Während unmittelbar nach der Verdünnung sowie nach 4-stündiger Lagerung des Spermas bei + 5°C der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien bei dem niedrigeren pH-Wert von 6,63 geringfügig höher war als bei einem pH-Wert von 7,24, lagen nach 24- und 72-stündiger Lagerung genau umgekehrte Verhältnisse vor. Nach 48-stündiger Lagerung des verdünnten Spermas betrug der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien bei beiden pH-Werten 66,3%. Die genannten Unterschiede betrugen während des ganzen Untersuchungszeitraumes maximal 2,7%.

Tab. 23: Einfluß der Veränderung des pH-Wertes eines Spermasol^R-Milch 100-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in flüssig-konserviertem Ziegenbocksperma
(3 Ziegenböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Lagerungszeit (Stunden)	pH-Wert	
		6,63 $\pm$ 0,01	7,24 $\pm$ 0,02
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	0	71,0 $\pm$ 4,31	68,3 $\pm$ 3,62
	4	72,3 $\pm$ 2,58	71,3 $\pm$ 3,52
	24	68,6 $\pm$ 2,97	69,3 $\pm$ 5,63
	48	66,3 $\pm$ 3,52	66,3 $\pm$ 5,16
	72	61,6 $\pm$ 3,62	62,0 $\pm$ 4,14
Ungefärbte Spermien (%)	0	79,2 $\pm$ 5,35	78,7 $\pm$ 6,05
	4	78,9 $\pm$ 5,90	75,4 $\pm$ 6,40
	24	74,0 $\pm$ 5,61	74,2 $\pm$ 7,14
	48	69,2 $\pm$ 4,34	70,7 $\pm$ 5,15
	72	66,3 $\pm$ 4,11	68,2 $\pm$ 5,42

Ähnlich wie der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien verhielt sich auch der Anteil der ungefärbten Spermien (siehe Tab. 23). Bei einem pH-Wert von 6,63 sank der Prozentsatz ungefärbter Spermien von einem Ausgangswert unmittelbar nach der Verdünnung von 79,2 auf 66,3 nach 72-stündiger Lagerung des verdünnten Spermas ab. Die entsprechenden Werte bei einem pH-Wert des Verdünners von 7,24 betrugen 78,7 bzw. 68,2%.

3.2.4.2. Untersuchungen mit einem Natriumzitrat - Verdünner und einem Spermasol^R - Milch 100 - Verdünner mit originaler Osmolalität und veränderter Osmolalität

Der Natriumzitrat-Verdünner mit der geringeren Osmolalität erwies sich während des gesamten Untersuchungszeitraumes von 72 Stunden hinsichtlich des Prozentsatzes vorwärtsbeweglicher sowie ungefärbter Spermien nur geringgradig dem Verdünner mit der höheren Osmolalität als unterlegen (siehe Tab. 24).

Tab. 24: Einfluß der Veränderung der Osmolalität eines Natriumzitrat-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in flüssigkonserviertem Ziegenbocksperma (3 Ziegenböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Lagerungszeit (Stunden)	Osmolalität (mosm/kg)	
		333,60 $\pm$ 2,77	293,07 $\pm$ 1,33
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	0	79,6 $\pm$ 4,81	81,0 $\pm$ 4,31
	4	79,6 $\pm$ 4,81	78,6 $\pm$ 6,11
	24	76,0 $\pm$ 5,41	75,6 $\pm$ 5,94
	48	71,6 $\pm$ 5,23	73,0 $\pm$ 5,92
	72	67,0 $\pm$ 5,92	66,3 $\pm$ 6,94
Ungefärbte Spermien (%)	0	86,0 $\pm$ 2,41	86,5 $\pm$ 2,94
	4	86,0 $\pm$ 3,21	85,1 $\pm$ 3,81
	24	84,2 $\pm$ 3,30	82,5 $\pm$ 3,58
	48	82,2 $\pm$ 3,20	80,6 $\pm$ 6,62
	72	79,9 $\pm$ 3,42	77,7 $\pm$ 6,70

So nahm bei einer Osmolalität von 333,60 mOsm/kg der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien von 79,6% unmittelbar nach der Verdünnung auf 67,0% nach 72 Stunden ab. Bei einer Osmolalität von 293,07 mOsm/kg lag der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien unmittelbar nach der Verdünnung bei 81,0% und sank im Verlauf der 72-stündigen Lagerung des verdünnten Spermas bis auf 66,3% ab.

Ein ähnlich geringer Einfluß der untersuchten Osmolalitätswerte war auf den Prozentsatz ungefärbter Spermien festzustellen. Hier nahm bei einer Osmolalität von 333,60 mOsm/kg der Anteil ungefärbter Spermien von 86,0% unmittelbar nach der Verdünnung auf 79,9% nach 72 Stunden ab. Die entsprechenden Werte für eine Osmolalität von 293,07 mOsm/kg betrugen 86,5 bzw. 77,7%.

Der Spërmasol^R-Milch 100-Verdünnner war mit der höheren Osmolalität von 332,60 mOsm/kg dem gleichen Verdünner mit niedriger Osmolalität von 293,80 mOsm/kg geringfügig überlegen (siehe Tab. 25).

Tab. 25: Einfluß der Veränderung der Osmolalität eines Spermasol^R Milch 100 - Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in flüssigkonserviertem Ziegenbocksperma
(3 Ziegenböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Lagerungszeit (Stunden)	Osmolalität (mosm/kg)	
		293,80 $\pm$ 0,77	332,60 $\pm$ 1,06
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	0	67,0 $\pm$ 4,14	70,3 $\pm$ 3,52
	4	72,0 $\pm$ 3,16	73,6 $\pm$ 3,99
	24	70,3 $\pm$ 2,29	72,3 $\pm$ 3,20
	48	64,3 $\pm$ 3,20	66,3 $\pm$ 3,99
	72	61,6 $\pm$ 2,44	61,6 $\pm$ 4,08
Ungefärbte Spermien (%)	0	73,9 $\pm$ 4,96	76,8 $\pm$ 3,92
	4	76,4 $\pm$ 4,07	78,4 $\pm$ 3,83
	24	74,4 $\pm$ 3,11	76,1 $\pm$ 3,30
	48	70,8 $\pm$ 2,45	71,3 $\pm$ 3,44
	72	68,6 $\pm$ 2,33	67,9 $\pm$ 2,79

Während der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien bei einer Osmolalität von 293,80 mOsm/kg von 67,0 nach der Verdünnung auf 64,3 nach 48 Stunden absank, und die entsprechenden Werte bei 332,60 mOsm/kg 70,3 bzw. 66,3% betrugen, war nach 72 Stunden der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien bei beiden Osmolalitäten identisch, nämlich 61,6%.

Ähnliches gilt auch für den Prozentsatz ungefärbter Spermien; dieser lag jedoch bei einer Osmolalität von 332,60 $\pm$ nach 72 Stunden im Gegensatz zu einer kürzeren Lagerungsdauer geringfügig unter dem entsprechenden Wert für 293,80 mOsm/kg.

3.2.5. Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma

Die für diese Untersuchungen gewonnenen Nativejakulate erfüllten die üblichen spermatologischen Mindestanforderungen. Ausgewählte Parameter, die auch in den Konservierungsversuchen als Beurteilungskriterien herangezogen wurden, sind in Tabelle 26 aufgelistet.

Tab. 26: Ausgewählte Parameter in unverdünnten Ziegenbockejakulaten für die Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung (3 Ziegenböcke, je 20 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Tier	Vorwärts- bewegl. Spermien (%)	Ungefärbte Spermien (%)	pH	Osmolalität (mOsm/kg)
A	70,0 $\pm 2,29$	74,4 $\pm 6,40$	6,47 $\pm 0,12$	328,10 $\pm 2,92$
B	77,5 $\pm 4,44$	86,8 $\pm 9,22$	6,44 $\pm 0,10$	327,35 $\pm 4,06$
C	72,0 $\pm 4,41$	77,8 $\pm 11,16$	6,50 $\pm 0,07$	328,95 $\pm 3,72$

3.2.5.1. Untersuchungen mit einem Tris - Verdüner und einem Raffinose - Verdüner mit originalem pH - Wert und verändertem pH - Wert

Im Tris-Verdüner ist bezüglich des Prozentsatzes vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien zwischen beiden untersuchten pH-Werten nur ein äußerst geringer Unterschied festzustellen, der während des gesamten Untersuchungszeitraumes für den Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien im Höchstfall 0,6% und für den Anteil ungefärbter Spermien 0,8% beträgt (siehe Tab. 27).

Tab. 27: Einfluß der Veränderung des pH-Wertes eines Tris-Verdüners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Ziegenbocksperma (3 Ziegenböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungszeitpunkt	pH-Wert	
		6,76 $\pm$ 0,02	6,25 $\pm$ 0,004
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	n. Verdünnung	73,0 $\pm$ 7,02	73,6 $\pm$ 7,90
	n. Adaptation	76,0 $\pm$ 7,61	75,3 $\pm$ 7,19
	n. Auftauen	68,6 $\pm$ 6,11	69,0 $\pm$ 7,12
	n. 24 Std.	64,3 $\pm$ 5,63	64,6 $\pm$ 7,90
	n. 8 Tagen	60,6 $\pm$ 5,63	60,0 $\pm$ 8,86
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	77,0 $\pm$ 12,35	76,9 $\pm$ 12,79
	n. Adaptation	81,2 $\pm$ 10,96	81,2 $\pm$ 10,01
	n. Auftauen	65,1 $\pm$ 8,05	65,9 $\pm$ 9,26
	n. 24 Std.	60,9 $\pm$ 9,57	60,8 $\pm$ 8,91
	n. 8 Tagen	58,0 $\pm$ 8,69	57,5 $\pm$ 9,88

So beträgt bei einem pH-Wert von 6,76 der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien nach der Verdünnung 73,0%, nach dem Einfrieren 68,6% und sinkt im Verlauf einer 8-tägigen Lagerung des verdünnten Spermas bei -196°C auf 60,6% ab. Die entsprechenden Werte für einen pH-Wert von 6,25 betragen 73,6 bzw. 69,0 und 60,0%.

Der Anteil ungefärbter Spermien sinkt bei einem pH-Wert von 6,76 von einem Ausgangswert in frisch verdünntem Sperma von 77,0% über 65,1% unmittelbar nach dem Einfrieren auf 58,0% nach 8-tägiger Lagerung des Spermas ab. Für den pH-Wert von 6,25 liegen die entsprechenden Werte bei 76,9 bzw. 65,9 und 57,5%.

Im Raffinose-Verdünnern ist bei dem niedrigeren pH-Wert von 6,24 ein geringfügig höherer Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien festzustellen als bei dem höheren pH-Wert von 6,83 (siehe Tab. 28).

Tab. 28: Einfluß der Veränderung des pH-Wertes eines Raffinose-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Ziegenbocksperma (3 Ziegenböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungs- zeitpunkt	pH-Wert	
		6,24 $\pm$ 0,03	6,83 $\pm$ 0,02
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	n. Verdünnung	66,6 $\pm$ 5,88	68,0 $\pm$ 5,28
	n. Adaptation	68,0 $\pm$ 4,14	66,6 $\pm$ 6,99
	n. Auftauen	60,6 $\pm$ 2,58	59,3 $\pm$ 4,95
	n. 24 Std.	58,6 $\pm$ 3,52	54,0 $\pm$ 3,87
	n. 8 Tagen	54,3 $\pm$ 4,58	51,3 $\pm$ 3,52
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	76,5 $\pm$ 9,73	74,6 $\pm$ 9,03
	n. Adaptation	77,9 $\pm$ 10,08	75,3 $\pm$ 8,62
	n. Auftauen	57,1 $\pm$ 5,27	55,3 $\pm$ 3,72
	n. 24 Std.	53,1 $\pm$ 7,36	50,2 $\pm$ 4,60
	n. 8 Tagen	50,2 $\pm$ 5,09	46,6 $\pm$ 3,80

Die Werte der beurteilten Spermaparameter liegen bei dem niedrigeren pH-Wert bei den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten um rund 2 bis 4 % über den entsprechenden Werten bei einem pH von 6,83. Lediglich der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien unmittelbar nach der Verdünnung liegt bei einem pH-Wert von 6,83 um knapp 2 % über dem entsprechenden Wert bei einem pH von 6,24 (siehe Tab. 28).

3.2.5.2. Untersuchungen mit einem Tris-Verdünnern und einem Raffinose-Verdünnern mit originaler Osmolalität und veränderter Osmolalität

Im Tris-Verdünnern mit niedriger Osmolalität ist der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien geringer als bei dem gleichen Verdünnern mit höherer Osmolalität von 334,60 mOsm/kg. Besonders deutlich wird dies beim Auftauen des verdünnten Spermas unmittelbar nach dem Einfrieren sowie nach 24-stündiger und 8-tägiger Lagerung des Spermas bei -196°C . Bei diesen Untersuchungszeitpunkten beträgt die Differenz in der Spermienmotilität zwischen 4 und 5,7% zugunsten des Tris-Verdünners mit höherem osmotischen Druck (siehe Tab. 29).

Tab. 29: Einfluß der Veränderung der Osmolalität eines Tris-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Ziegenbocksperma (3 Ziegenböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungszeitpunkt	Osmolalität (mosm/kg)	
		334,60 $\pm$ 1,55	252,93 $\pm$ 0,70
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	n. Verdünnung	72,6 $\pm$ 6,23	71,0 $\pm$ 7,37
	n. Adaptation	74,3 $\pm$ 9,23	73,0 $\pm$ 8,62
	n. Auftauen	67,0 $\pm$ 7,75	63,0 $\pm$ 6,76
	n. 24 Std.	64,3 $\pm$ 7,99	58,6 $\pm$ 6,40
	n. 8 Tagen	60,3 $\pm$ 6,94	55,0 $\pm$ 5,0
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	82,1 $\pm$ 10,47	83,1 $\pm$ 10,50
	n. Adaptation	82,8 $\pm$ 12,97	81,1 $\pm$ 11,65
	n. Auftauen	67,7 $\pm$ 9,60	66,4 $\pm$ 11,42
	n. 24 Std.	63,2 $\pm$ 11,81	61,8 $\pm$ 10,36
	n. 8 Tagen	58,8 $\pm$ 11,25	57,1 $\pm$ 10,98

Unmittelbar nach dem Einfrieren zeigen bei höherer Osmolalität noch 67,0% der Spermien eine Vorwärtsbewegung, bei geringerer Osmolalität noch 63,0%. Im Verlauf einer 8-tägigen Lagerung des Spermas sinkt dieser Prozentsatz auf 60,3 bzw. 55,0% ab.

Bezüglich des Anteils ungefärbter Spermien ist die Wirkung der unterschiedlichen Osmolalität des Tris-Verdünners weniger deutlich. Nach der Adaptation finden sich bei einer Osmolalität von 334,60 mOsm/kg 82,8% ungefärbte Spermien. Dieser Prozentsatz geht nach dem Einfrieren auf 67,7% zurück und sinkt im Verlauf einer 8-tägigen Lagerung des verdünnten Spermas auf 58,8% ab. Bei einer Osmolalität von 252,93 mOsm/kg sind nach der Adaptation noch 81,1% der Spermien ungefärbt, unmittelbar nach dem Einfrieren 66,4% und nach 8 Tagen 57,1%.

Der Raffinose-Verdünnern mit höherer Osmolalität erweist sich sowohl hinsichtlich des Prozentsatzes motiler als auch ungefärbter Spermien dem Verdünnern derselben Zusammensetzung, jedoch mit niedrigerer Osmolalität als geringgradig überlegen (siehe Tab. 30).

Tab. 30: Einfluß der Veränderung der Osmolalität eines Raffinose-Verdünners auf den Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien in tiefgefrorenem Ziegenbocksperma (3 Ziegenböcke, je 5 Ejakulate; $\bar{x} \pm s$)

Parameter	Untersuchungs- zeitpunkt	Osmolalität (mosm/kg)	
		253,60 $\pm$ 1,06	336,20 $\pm$ 1,66
Vorwärtsbewegl. Spermien (%)	n. Verdünnung	65,3 $\pm$ 3,52	68,6 $\pm$ 3,99
	n. Adaptation	65,0 $\pm$ 5,67	67,6 $\pm$ 4,58
	n. Auftauen	56,0 $\pm$ 3,87	59,3 $\pm$ 4,58
	n. 24 Std.	52,6 $\pm$ 3,72	54,0 $\pm$ 3,38
	n. 8 Tagen	49,6 $\pm$ 3,99	50,3 $\pm$ 4,42
Ungefärbte Spermien (%)	n. Verdünnung	66,7 $\pm$ 4,13	67,6 $\pm$ 4,92
	n. Adaptation	62,1 $\pm$ 7,22	65,3 $\pm$ 5,80
	n. Auftauen	45,2 $\pm$ 9,05	47,7 $\pm$ 5,82
	n. 24 Std.	42,8 $\pm$ 5,99	44,9 $\pm$ 8,41
	n. 8 Tagen	41,6 $\pm$ 6,74	43,9 $\pm$ 6,95

Der Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien beträgt bei höherer Osmolalität 68,6%, im Gegensatz zu 65,3% bei niedrigerer Osmolalität. Unmittelbar nach dem Einfrieren sowie nach 24-stündiger und 8-tägiger Lagerung des verdünnten Spermas bei -196°C beträgt der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher Spermien bei einer Osmolalität von 336,20 mOsm/kg 59,3 sowie 54,0 und 50,3%, während die entsprechenden Werte bei einer Osmolalität des Raffinose-Verdünners von 253,60 mOsm/kg 56,0 bzw. 52,6 und 49,6% betragen.

Ähnlich verhält sich auch der Prozentsatz ungefärbter Spermien. Bei höherer Osmolalität sinkt er nach 8-tägiger Lagerung des Spermas in tiefgefrorenem Zustand von einem Ausgangswert von 67,6% unmittelbar nach der Verdünnung auf 43,9% ab, bei einer niedrigeren Osmolalität von 66,7% nach der Verdünnung auf 41,6% nach 8 Tagen.

4. DISKUSSION

Die Spermakonservierung macht es erforderlich, das Nativejakulat zu "verdünnen". Diese Maßnahme ist aus mehreren Gründen notwendig. So soll zum einen damit die Aufteilung eines Ejakulates in viele (z.B. beim Bullen mehrere hundert) Samenportionen ermöglicht werden. Gleichzeitig können Nähr- und Schutzstoffe, aber auch andere Substanzen wie Gefrierschutzmittel bzw. Antibiotika an die Samenzellen heran- bzw. in das die Spermien umgebende Milieu eingebracht werden.

Diese Stoffe sowie eventuell enthaltene Salze oder Puffersubstanzen bedingen die chemisch-physikalischen Eigenschaften des verdünnten Samens und nehmen damit nicht nur durch direkte Einwirkung auf die Samenzellen Einfluß auf deren Lebensfähigkeit, sondern auch durch die Interaktionen mit allen anderen Inhaltsstoffen. Gerade diese Interaktionen machen die Beurteilung der Wirkung von einzelnen Komponenten eines Sperma verdünnens sehr schwierig. In den eigenen Untersuchungen wurden deshalb pH-Wert und Osmolalität als ganzheitliche Faktoren angesehen, die die Lebensfähigkeit der Spermien beeinflussen können. Als Parameter für die Reaktion der Samenzellen wurde neben dem Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien auch eine sogenannte Lebend-Tot-Färbung verwendet. Dies geschah auch deshalb, weil der Einfluß chemisch-physikalischer Faktoren, wie pH-Wert und Osmolalität, auf die Plasmamembran und der durch Färbung untersuchte Zustand dieser Zellorganelle eine direkte Beziehung vermuten lassen.

Bei der Konservierung des in den eigenen Versuchen verwendeten Wiederkäuerspermas wurde für den Bullen nur das Tiefgefrierverfahren gewählt, da diese Art der Spermakonservierung die Verarbeitung und Aufbewahrung von Bullensperma in flüssigem Zustand in Deutschland und in den meisten übrigen Ländern weit-

gehend in den Hintergrund gedrängt hat. Dagegen wurde das Sperma von Schaf- und Ziegenbock sowohl in flüssiger als auch in tiefgefrorener Form verarbeitet und konserviert.

Zur Tiefgefrierkonservierung des Bullenspermas fanden ein Laktose-Verdünner sowie ein im Handel als Fertigkonzentrat erhältlicher Tris-Verdünner (Rp. Triladyl^R) Verwendung. Während sämtlicher Verarbeitungsschritte, aber auch nach 1- bzw. 8-tägiger Lagerung des verdünnten Spermas in flüssigem Stickstoff war der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien höher, wenn der Tris-Verdünner seinen originalen pH-Wert von 6,64 anstelle des pH-Wertes eines Laktose-Verdünners von 5,85 besaß. Dieser pH-Wert von 6,64 ist nahezu identisch mit dem durchschnittlichen pH-Wert der nativen Bullenejakulate von 6,62, der in den eigenen Untersuchungen festgestellt wurde. Zu ähnlich besseren Ergebnissen bei schwach saurem pH-Wert als bei stark saurem pH-Wert kommen auch AALSETH und SAACKE (1981) sowie BLACKSHAW und EMMENS (1951).

Vergleichbare Resultate liefert auch die Untersuchung des Laktose-Verdünners. Hier zeichnet sich ebenfalls eine Überlegenheit des höheren pH-Wertes gegenüber dem originalen pH-Wert des Verdünners ab, wenn der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien als Beurteilungskriterium herangezogen wird.

Wirft man nun einen Blick auf den Einfluß der Osmolalität, so wird deutlich, daß eine höhere Osmolalität von durchschnittlich 420 mOsm/kg in beiden Verdünnern zu besseren Konservierungsergebnissen führt als die niedrigere Osmolalität. Bemerkenswert hierbei ist, daß diese vorzuziehende Osmolalität von 420 mOsm/kg um rund 120 mOsm/kg höher liegt als der durchschnittliche osmotische Druck der verarbeiteten Bullenejakulate, der bei 298 mOsm/kg liegt. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu Unter-

suchungen von BLACKSHAW (1960), MARTIN (1963), PURSLEY und HERMAN (1950) sowie ROTHSCILD und BARNES (1954), wonach nur in isotonen bzw. allenfalls leicht hypertonen Verdünnern von bis zu maximal 370 mOsm/kg keine Beeinträchtigung von Motilität und zellulärer Integrität der Spermien stattfindet. STEINBACH und FOOTE (1967) dagegen empfehlen zur Konservierung von Bullensperma ausdrücklich die Verwendung hypertoner Medien.

In den zur Flüssigverdünnung von Schafbocksperma verwendeten Konservierungsmedien war kein einheitlicher Einfluß unterschiedlicher pH-Werte zu verzeichnen. Während im Natriumzitrat-Verdünner mit neutralem pH-Wert von 7,10 Motilität und Überlebensrate der Spermien mit zunehmender Lagerungsdauer des verdünnten Samens höher lagen als bei saurem pH-Wert von 6,31, galt für den Glukose-Phosphat-Verdünner das Gegenteil. Hier wurde hinsichtlich des Prozentsatzes vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien eine Überlegenheit des sauren pH-Wertes deutlich. In diesem Fall kommt wohl eine Abhängigkeit des günstigsten pH-Wertes von der übrigen chemischen Zusammensetzung des Verdünners zum Tragen, wie sie auch von SCHLEICHER und BRÜCKNER (1973) erwähnt wird.

Während die erzielten Ergebnisse bezüglich Spermienmotilität und Überlebensrate der Spermien im Verlauf einer 72-stündigen Lagerung des im eidotterhaltigen Natriumzitrat-Verdünners konservierten Spermas als durchaus zufriedenstellend anzusehen sind und auch mit den von zahlreichen Autoren (DAUZIER et al., 1954; MENDER und BRÜCKNER, 1978; PETRUZZI et al., 1976; ZLATAREV, 1980 b) in vitro erreichten Resultaten übereinstimmen, ist im Glukose-Phosphat-Verdünner bereits nach 24 Stunden ein deutliches Absinken der Vorwärtsbeweglichkeit und des Prozentsatzes ungefärbter Spermien - unabhängig von pH-Wert oder Osmolalität - festzustellen. Dies dürfte auf das Fehlen von Eidotter in diesem Verdünner zurückzuführen sein, wodurch die Spermien ohne den

membranstabilisierenden Effekt des Eidotters den Einwirkungen tiefer Temperaturen, unter Umständen auch einem Kälteschock, ausgesetzt sind (FISER und FAIRFULL, 1986 b; GRAHAM und FOOTE, 1987).

Bei der Betrachtung der Auswirkung unterschiedlicher Osmolalität im Natriumzitat- und Glukose-Phosphat-Verdünner wird deutlich, daß in beiden Verdünnern bei einer Hypotonie bessere Konservierungsergebnisse erzielt werden können, als wenn die Osmolalität der Samenverdünner eine geringgradige Hypertonie in Bezug auf die Nativejakulate aufweist.

Während in dem zur Tiefgefrierkonservierung der Schafbock-ejakulate verwendeten Magermilch-Verdünner bei den überprüften pH-Werten von 6,52 und 7,23 nur ein zu vernachlässigender Unterschied der beurteilten Spermaparameter zu beobachten war, ließ sich im TEST-M/OEP-Verdünner bei einem etwa neutralen pH-Wert von 7,23 durchweg ein höherer Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien erzielen als in dem gleichen Verdünner mit niedrigerem pH-Wert von 6,54. Im Vergleich hierzu liegen die in der Literatur angegebenen günstigsten pH-Werte von Tiefgefrierverdünnern für Schafbocksperma im Bereich von 5,9 bis 7,0 (BAR-SAGIE et al., 1980; BARTOON et al., 1980; MENGER, 1983). Gemessen an diesem optimalen pH-Bereich scheint der pH-Wert des TEST-M/OEP-Verdünners für die Erzielung bester Konservierungsergebnisse etwas hoch zu sein, was jedoch in den eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden konnte. Auch TEKIN (1982) fand in seinen Untersuchungen unmittelbar nach dem Auftauen von in einem TEST-M/OEP-Verdünner mit originalem pH-Wert von 7,2 tiefgefrorenem Schafbocksperma einen Anteil vorwärtsbeweglicher Spermien von 58 %. In den eigenen Untersuchungen mit dem gleichen Verdünner betrug dieser Anteil 55,3 %.

Die beiden verschiedenen osmotischen Drucke der untersuchten Magermilch- bzw. TEST-M/OEP-Verdüner, wirkten sich in Abhängigkeit der übrigen chemischen Zusammensetzung der Verdüner - unterschiedlich auf die beurteilten Spermaparameter aus. So konnte im hypertonen Magermilch-Verdüner im Laufe der gesamten Spermaverarbeitung und anschließenden Spermalagerung ein deutlich höherer Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien beobachtet werden als in demselben Verdüner, dessen Osmolalität gegenüber den verarbeiteten Nativejakulaten isoton war. Wurden Schafbockejakulate dagegen im TEST-M/OEP-Verdüner konserviert, lagen umgekehrte Verhältnisse vor. Hier ergab ein gegenüber den Nativejakulaten isotoner Verdüner ein um 11% besseres Konservierungsergebnis, gemessen am Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien, als ein Verdüner der gleichen Zusammensetzung, aber mit höherem osmotischen Druck. Über einen ähnlichen Zusammenhang zwischen der zur Spermakonservierung geeignetsten Osmolalität von Tiefgefrierverdünnern und deren chemischer Zusammensetzung berichten auch SALAMON und LIGHTFOOT (1969).

Zur Untersuchung des Einflusses von pH-Wert und Osmolalität in Verdünnern zur Flüssigkonservierung von Ziegenbocksperma wurden ein Natriumzitat-Verdüner und ein Spermasol^R-Milch 100-Verdüner verwendet. In den beiden genannten Verdünnern konnten bei einem pH-Wert im neutralen Bereich von etwa 7,2 bessere Konservierungsergebnisse erzielt werden als bei einem mehr-sauren pH-Wert von etwa 6,6. Dennoch zeigte der Spermasol^R-Milch 100-Verdüner mit niedrigerem pH-Wert unmittelbar nach der Verdünnung des Spermas und nach dessen 4-stündiger Lagerung eine geringgradige Überlegenheit gegenüber dem gleichen Verdüner mit eher neutralem pH-Wert. Wurde das Sperma jedoch länger als 4 Stunden bei + 5°C gelagert, dann lagen die oben skizzierten Verhältnisse vor. Auch FUKUHARA und NISHIKAWA (1973) sowie HAMPEL (1951) erwähnen, daß Lebensdauer, Motilität und Befruchtungsfähigkeit von Ziegenbockspermien in einem Natrium-

zitrat-Verdünner mit einem pH-Wert von 7,2 bis 7,5 die höchsten Werte aufweisen.

Die Osmolalität ließ sowohl im Natriumzitrat-Verdünner als auch im Spermasol^R-Milch 100-Verdünner eine nur äußerst geringe Beeinflussung der beurteilten Spermaparameter erkennen, jedoch mit der Tendenz einer minimal besseren Eignung des Verdünners mit höherer Osmolalität. Vergleichswerte hierzu waren aus der Literatur nicht verfügbar.

Äußerst gering war auch der Einfluß zweier verschiedener pH-Werte in einem Tris-Verdünner und einem Raffinose-Verdünner zur Tiefgefrierkonservierung von Ziegenbocksperma. Der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher und ungefärbter Spermien unterschied sich dabei in beiden Verdünnern nach Einstellung zweier unterschiedlicher pH-Werte um nur maximal 4%. Diese Ergebnisse der eigenen Untersuchungen decken sich in etwa auch mit Angaben aus der Fachliteratur. So bemerkt PAGGI (1971), daß die aktive Vorwärtsbeweglichkeit von Ziegenbockspermien in einem Raffinose-Verdünner, dessen pH-Wert im Bereich zwischen 6,6 und 7,4 liegt, am höchsten ist. Zwar sind in diesem genannten pH-Bereich Unterschiede in der Spermienmotilität zu erkennen; diese sind jedoch nicht signifikant.

Wurden Ziegenbockejakulate in einem Tris- und einem Raffinose-Verdünner, die im Vergleich zum Nativsperma isoton bzw. hypoton waren, konserviert, so konnten in den isotonen Medien bessere Konservierungs- und Auftauergebnisse erzielt werden als bei Verwendung der Verdünner mit niedrigerem osmotischen Druck. Hierfür sind speziell für den Ziegenbock aus der Literatur keine Vergleichswerte zu erhalten.

Abschließend bleibt zu sagen, daß die überprüften Unterschiede in pH-Wert und Osmolalität der in den eigenen Versuchen verwendeten Verdünner im wesentlichen keine gravierenden Folgen für die Bewegungsaktivität sowie die Überlebensrate der Spermien aller drei Wiederkäuerarten erkennen ließen. Ein Grund hierfür liegt wohl darin, daß es sich bei den in den vorliegenden Experimenten verwendeten Verdünnern um in der Praxis der Samenkonservierung bewährte Medien gehandelt hat, bei denen zumindest eindeutig negative Einflüsse auf die Lebensfähigkeit der Spermien auszuschließen sind. Darüberhinaus ist es, selbst bei so eng verwandten Spezies wie Rind, Schaf und Ziege, nicht möglich, eine allgemeingültige Aussage darüber zu treffen, in welcher Weise ein neutraler, saurer oder alkalischer pH-Wert bzw. Isotonie, Hypotonie oder Hypertonie von Samenverdünnern die Spermienmotilität und -vitalität beeinflussen. Hingegen muß jeweils der Einzelfall, d.h. der jeweils verwendete Verdünner, betrachtet werden, da in diesem einer Interaktion seiner Einzelkomponenten - seien es nun die verschiedenen Verdünnerbestandteile oder auch chemisch-physikalische Eigenschaften, wie pH-Wert und Osmolalität - eine nicht zu unterschätzende Bedeutung zukommt. Während in dem einen Verdünner z.B. ein niedriger pH-Wert die Spermien negativ beeinflusst, können bei Verwendung eines anders zusammengesetzten Mediums völlig konträre Verhältnisse vorliegen. Ähnliches gilt auch entsprechend für die Osmolalität. Bei der Optimierung von pH-Wert und Osmolalität eines ganz bestimmten Verdünners für eine spezielle Tierart muß daher auch immer die übrige chemische Zusammensetzung dieses Mediums berücksichtigt werden. Zur Beurteilung der optimalen Einstellung von pH-Wert und Osmolalität eines ganz bestimmten Verdünners ist eine exakte Methode der Vitalitätsbestimmung der Spermien mit guter Reproduzierbarkeit erforderlich. Da jedoch weder die subjektive Schätzung des Anteils vorwärtsbeweglicher Spermien noch die verschiedenen Verfahren zur sogenannten Lebend-Tot-Färbung diesen Anforderungen voll gerecht werden, könnte der Einsatz der in jüngster Zeit entwickelten computergesteuerten Videomikrographie bei dieser Fragestellung zu Fortschritten verhelfen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der Effekt verschiedener Werte für pH und Osmolalität in gängigen Verdünnern zur Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma sowie zur Flüssig- und Tiefgefrierkonservierung des Spermas von Schaf- und Ziegenbock im split-sample-Verfahren untersucht. Als Parameter für die Spermabeurteilung dienten der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher sowie der Prozentsatz ungefärbter Spermien nach Färbung mit Bromphenolblau-Nigrosin.

Bei der Tiefgefrierkonservierung von Bullensperma bedingte ein nur schwach saurer pH-Wert der untersuchten Verdünnern - unabhängig von deren übriger Zusammensetzung - eine durchweg bessere Motilität und Überlebensrate der Spermien als ein pH-Wert, der im stärker sauren Bereich lag. In hypertonen Verdünnern zeigten die beurteilten Spermaparameter höhere Werte als in isotonen Medien.

In den verwendeten Verdünnern zur Flüssig- und Tiefgefrierkonservierung von Schafbocksperma konnte eine Abhängigkeit des zur Aufrechterhaltung der Lebensfunktionen der Spermien günstigsten pH-Wertes von der chemischen Zusammensetzung der Verdünnern beobachtet werden. Während bei der Flüssigkonservierung des Spermas mit hypotonen Verdünnern bessere Ergebnisse erzielt werden konnten, zeichnete sich in Tiefgefrierverdünnern eine Abhängigkeit der geeignetsten Osmolalität von der Art des verwendeten Konservierungsmediums ab.

Bei der Konservierung von Ziegenbocksperma erwies sich ein neutraler pH-Wert der Verdünner günstiger als ein leicht saurer pH-Wert, wogegen letzterem in Tiefgefrierverdünnern der Vorzug gegeben werden sollte. Eine Osmolalität, die in etwa derjenigen frisch gewonnener Ziegenbockejakulate entsprach, führte in Flüssig- und Tiefgefrierverdünnern zu besseren Konservierungsergebnissen als eine Hypotonie der verwendeten Verdünner.

6. SUMMARY

Comparison of extenders for semen preservation in the bull, ram and buck with special reference to their pH and osmolality

In this investigation the influence of different values concerning pH and osmotic pressure of current extenders for artificial insemination in ruminants was examined. Semen of 3 bulls was used only in deep-frozen state, whereas semen of 3 rams and bucks was diluted in liquid and deep-frozen state. All sperm samples were evaluated by percentage of progressively motile spermatozoa and percentage of unstained sperm cells after a brominephenolblue-nigrosine staining procedure.

In the bull weakly acid extenders lead to a higher percentage of progressive motile and unstained spermatozoa than did the same diluents having a much lower pH. The use of extenders with a higher osmolality than the freshly collected bull ejaculates resulted in a better sperm motility than did extenders being isoosmotic to fresh semen.

During the preservation of ram semen in a liquid and deep-frozen state the optimal pH for maintainance of the sperm cell's vital functions was dependent on the chemical composition of the extenders used. The preferable osmotic pressure in extenders for liquid semen preservation being hypoosmotic, a dependence of the most suitable osmolality in deep-freeze extenders on their chemical constituents could be realized.

In diluents for buck semen a more neutral pH improved sperm motility and survival compared with a more acid value. During deep-freezing a lower pH was preferable. Isoosmotic diluents for both liquid and deep-freeze preservation of buck semen positively influenced sperm survival and motility than did hypotonic extenders.

7. LITERATURVERZEICHNIS ,

AALSETH, E.P. und R.G. SAACKE (1981):

Effect of fructose concentration and pH on the acrosome of motile bovine sperm

J. Anim. Sci. 53, Suppl. 1: 292, Abstr. 413

AAMDAL, J. and K. ANDERSEN (1968):

Fast thawing of semen frozen in straws

Zuchthyg. 3, 22-24

AEHNELT, E. (1953):

Prüfungsergebnisse neuer Verdünnungsflüssigkeiten für das Bullensperma

Dtsch. tierärztl. Wschr. 60, Beilage Fortpfl. u. Besam. d.

Haust. 7, 52-55

AEHNELT, E. und B. ROSENWINKEL (1953):

Über den Stand der Verdünnung und Aufbewahrung des Ziegenspermas

Dtsch. tierärztl. Wschr. 60, Beilage Fortpfl. u. Besam. d.

Haust. 3, 68-71

ALMQUIST, J.O. (1975):

Effect of sperm numbers on fertility of frozen bull spermatozoa in skim milk diluent

J. Dairy Sci. 58, 420-422

ALMQUIST, J.O., J.L. ROSENBERGER and R.J. BRANAS (1979):

Effect of thawing time in warm water on fertility of bovine spermatozoa in plastic straws

J. Dairy Sci. 62, 772-775

AMIR, D. and H. SCHINDLER (1967):

Influence of lactate on the rates of fructolysis and respiration in ram spermatozoa

J. Reprod. Fert. 14, 121-127

AMIR, D., H. SCHINDLER, E. EYAL, A.R. LEHRER and O. KEMPENICH-PINTO (1973):

The effect of the ratio of dilution of ram semen in different diluents on the conception rate

Annls Biol. anim. Biochim. Biophys. 13, 1-5

ANDERSEN, K. (1969):

Insemination with frozen semen in goats

Nord. VetMed. 21, 625-628

ANDERSEN, K., J. AAMDAL and J.A. FOUGNER (1973):

Intrauterine and deep cervical insemination with frozen semen in sheep

Zuchthyg. 8, 113-118

ARBEITER, E.^o (1964):

Beitrag zur Spermien-Morphologie der Ziegenböcke

Dtsch. tierärztl. Wschr. 71, 60-62

ARMSTRONG, D.T. and G. EVANS (1984):

Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes

J. Reprod. Fert. 71, 89-94

ARNOLD, K., L. PRATSCH and K. GAWRISCH (1983):

Effect of poly (ethylene) glycol on phospholipid hydration and polarity of the external phase

Biochim. Biophys. Acta 728, 121-128

BALDWIN, E. (1977):

Das Wesen der Biochemie

4. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart

BARKER, C.A.V. (1968):

The preparation of dairy goat semen for freezing

6th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Paris, Vol. II, 1611-1612

BAR-SAGIE, D., B. BARTOOV and A. MAYEVSKY (1980):

The interrelation between pH and motility in fructolysis-inhibited sperm cells

9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. V, 67-70

BARTOOV, B., D. BAR-SAGIE and A. MAYEVSKY (1980):

The effect of pH on ram sperm collective motility driven by mitochondrial respiration

Int. J. Androl. 3, 602-612

BAUER, H.-J. und O. LIEBENBERG (1976):

Untersuchungen zum Einfluß der Verdünnung, Äquilibrierung und des Auftauens von Schafbocksperma bei dessen Tiefgefrierkonservierung nach dem Pelletverfahren

Arch. Tierz. 4, 283-293

BAY, F. (1986):

Künstliche Besamung bei Ziegen

Tierzüchter 38, 378-379

BEAN, B.H., B.W. PICKETT and R.C. MARTIG (1962):

Some factors affecting the motility and pH of frozen bovine semen

J. Dairy Sci. 45, 1578

BEAN, B.H., B.W. PICKETT and R.C. MARTIG (1963):

Influence of freezing methods, extenders and storage temperatures on motility and pH of frozen bovine semen

J. Dairy Sci. 46, 145-149

BECKER, U.C., P.L. SENGGER, E.P. AALSETH and C.E. MARSHALL (1977):

Influence of glycerol levels, diluent and post-thaw temperature on motility and acrosomal maintenance in bovine semen frozen in plastic straws

J. Anim. Sci. 44, 1067-1071

BERNDTSON, W.E. and R.H. FOOTE (1972 a):

Bovine sperm cell volume at various intervals after addition of glycerol at 5° C

Cryobiology 9, 29-33

BERNDTSON, W.E. and R.H. FOOTE (1972 b):

The freezability of spermatozoa after minimal pre-freezing exposure to glycerol or lactose

Cryobiology 9, 57-60

BIALY, G., T.M. LUDWICK, E.A. HESS and F. ELY (1957):

Influence of lipoprotein on the freezing of bovine spermatozoa

J. Dairy Sci. 40, 1189-1192

BISHOP, M.W.H. and A. WALTON (1960):

Metabolism and motility of mammalian spermatozoa

in: Marshall's physiology of reproduction, Vol. I, Part 2, 264-309, Parkes, A.S. (Hrsg.), Longman's Green and Co, Edinburgh

BLACKSHAW, A.W. (1955 a):

The effect of equilibration and the addition of various sugars on the revival of spermatozoa from - 79° C

Aust. vet. J. 31, 124-128

BLACKSHAW, A.W. (1955 b):

Factors affecting the revival of bull and ram spermatozoa after freezing to - 79° C

Aust. vet. J. 31, 238-241

BLACKSHAW, A. W. (1960 a):

The effects of pH, tonicity and temperature of glycerolisation on the revival of ram and bull spermatozoa after freezing to - 79° C

Aust. vet. J. 36, 376-379

BLACKSHAW, A.W. (1960 b):

The effects of milk diluents on the viability of ram spermatozoa and their revival after freezing

Aust. vet. J. 36, 432-435

BLACKSHAW, A.W. and C.W. EMMENS (1951):

The interaction of pH, osmotic pressure and electrolyte concentration on the motility of ram, bull and human spermatozoa

J. Physiol. 114, 16-26

BLOCKHUIS, J. (1958):

Praktische Anwendung der künstlichen Besamung bei Ziegen
Tschr. diergeneesk. 82, 570-581

BOCK, K. (1968):

Zur Anwendung von Tiefkühlsperma in Pillenform (Pellets)
Dtsch. tierärztl. Wschr. 75, 114-117

BOEHNKE, H.J. (1973):

Untersuchungen zur Tiefgefrierung von Ebersamen mit dem Test-
und dem TesNaK-Verdünnern
Vet. Med. Diss., Hannover

BOGART, R. and D.T. MAYER (1950):

The effects of egg yolk on the various physical and chemical factors detrimental to spermatozoan viability

J. Anim. Sci. 9, 143-152

BONFERT, A. (1965):

Möglichkeiten und Grenzen der Ziegenbesamung
Tierzüchter 17, 154-155

BONFERT, A. (1966):

Ziegen und Schafe
Tierzüchter 18, 707-709

BONFERT, A. (1969):

Ist die Ziegenbesamung mit Frostsperma praxisreif?
Tierzüchter 21, 264

BONGSO, T.A., I. FATIMAH and S. DASS (1982):

Synchronisation of oestrus of goats treated with progestagen-impregnated intravaginal sponges and PMSG, and reproductive performance following natural mating or A.I. with frozen semen

Anim. Reprod. Sci. 5, 111-116

BONNADONNA, T. und L. OLGATI (1953):

Dell identificazione dei nemaspermidi di "Bos Taurus" vivi e morti con la colorazione bleu bromo-fenolo e nigrosina

Zootec. Vet. 8, 195-199

BOWER, R.E., B.G. CRABO, M.M. PACE and E.F. GRAHAM (1973):

Effects of dilution and glycerol on the release of glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) from boar spermatozoa

J. Anim. Sci. 36, 319-324

BREDDERMAN, P.J. and R.H. FOOTE (1969):

Volume of stressed bull spermatozoa and protoplasmic droplets, and the relationship of cell size to motility and fertility

J. Anim. Sci. 28, 496-501

BROCKMANN, P. (1956):

Der Einfluß von Eidotter verschiedener Hühnerrassen auf die Lebensdauer von Ziegenbock- und Bullensperma sowie die Befruchtungsfähigkeit von Ziegenbocksperma

Vet. Med. Diss., Hannover

BRÜCKNER, G. und I. KÄMPFER (1984):

Untersuchungen zum Einfluß des pH-Wertes vom Zerviko-Vaginal-Sekret zum Inseminationszeitpunkt auf die Verteilung und Migration von ¹³¹I-markiertem Sperma im Genitaltrakt des Schafes

Mh. Vét.-Med. 39, 224-228

BRÜCKNER, G. und H. MENDER (1985):

Die Bedeutung des pH-Werts für die Beurteilung der Spermienqualität und des Brunstverlaufs sowie für die Erreichung guter Befruchtungsergebnisse. 2. Mitteilung: Der pH-Status des ovinen Zerviko-Vaginal-Sekretes zum Inseminationszeitpunkt, seine Beziehung zum Befruchtungsergebnis und die Wirkung einer exogenen Pufferapplikation

Arch. Exp. Vet. Med. 39, 336-343

BUHMANN, K. (1952):

Samenübertragung bei Ziegen. V. Beitrag. Verdünnungs- und Fütterungsversuche

Vet. Med. Diss., Hannover

CHANDLER, J.E., R.W. ADKINSON and R.L. NEBEL (1984):

Thawing optimums for bovine spermatozoa processed by three methods and packaged in continental and french straws

J. Dairy Sci. 67, 398-404

CHANG, M.C. and T. THORSTEINSSON (1958):

Effects of osmotic pressure and hydrogen-ion concentration on the motility and fertilizing capacity of rabbit spermatozoa

Fert. Steril. 9, 510-520

CHOONG, C.H. and R.G. WALES (1962):

The effect of cold shock on spermatozoa

Aust. J. biol. Sci. 15, 543-551

CHOONG, C.H. and R.G. WALES (1963):

The use of various diluents for deep-freezing bull spermatozoa

Aust. J. biol. Sci. 16, 896-904

CLEGG, E.D., R.J. KOMAREK and B.W. PICKETT (1965):

Preliminary investigations on glycerol entry into bovine spermatozoa

J. Dairy Sci. 48, 1709-1711

COCHRAN, J.D., R.P. AMANN, D.P. FROMAN and B.W. PICKETT (1984):
Effects of centrifugation, glycerol level, cooling to 5° C,
freezing rate and thawing rate on the post-thaw motility of
equine sperm

in: An overview of frozen equine semen, Amann and Pickett
(Hrsg.) 19-26, Colorado State University, Special Series 33,
Fort Collins, Colorado

COCHRAN, R.C., J.K. JUDY, C.F. PARKER and D.M. HALLFORD (1985):
Prefreezing and post-thaw semen characteristics of five
ram breeds collected by electroejaculation
Theriogenology 23, 431-440

COLAS, G. (1975):

Effect of initial freezing temperature, addition of glycerol
and dilution on the survival and fertilizing ability of deep-
frozen ram semen

J. Reprod. Fert. 42, 277-285

COLAS, G. (1979):

Fertility in the ewe after artificial insemination with
fresh and frozen semen at the induced oestrus, and influence
of the photoperiod on the semen quality of the ram

Livest. Prod. Sci. 6, 153-166

COLAS, G. (1980):

Suggested international standards for ram semen exchange
9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol.II, 287-296

COLAS, G., L. DAUZIER, M. COUROT, R. ORTAVANT et J.P. SIGNORET
(1968):

Résultats obtenus au cours de l'étude de quelques facteurs
importants de l'insémination artificielle ovine

Annls Zootech. 17, 47-57

COLAS, G. et G. BRICE (1970):

Fertilité des brebis traitées avec de l'acétate de fluorogestone
et inséminées artificiellement avec du sperme congelé:

resultats préliminaires

Annls Zootech. 19, 353-357

COLAS, G., M. TRYER, Y. GUERIN et D. AGUER (1980):

The survival rate and fertilizing ability of ram sperm after storage in a liquid state for 24 hours

9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. V, 161-164

COOKSON, A.D., A.N. THOMAS and J.A. FOULKES (1984):

Immunochemical investigation of the interaction of egg-yolk lipoproteins with bovine spermatozoa

J. Reprod. Fert. 70, 599-604

COOPER, T.A. (1985):

Prevention of hypo-osmotic swelling by detergents provides clues to the membrane structure of rat sperm

Int. J. Androl. 8, 159-167

CORTEEL, J.-M. (1967):

Effets comparés d'un tampon-citrate associé au jaune d'oeuf entier ou chimiquement fractionné sur la survie in vitro des spermatozoïdes de bouc

Annls Zootech. 16, 11-15

CORTEEL, J.M. (1974):

Viabilité des spermatozoïdes de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma séminal: effet du glucose

Annls Biol. anim. Biochim. Biophys. 14, 741-745

CORTEEL, J.M. (1975 a):

Effet du "lavage" sur la conservation des spermatozoïdes des boucs à basse température

Annls Biol. anim. Biochim. Biophys. 15, 525-528.

CORTEEL, J.M. (1975 b):

Production du sperme chez le bouc: variation saisonnière de la quantité et de la qualité du sperme récolté selon l'âge des animaux

1ères Journées Rech. ovine et caprine, Paris, 4-17

CORTEEL, J.M., G. BARIL, B. LEBOEUF and J.F. NUNES (1984):

Goat semen technology

in: The male in farm animal reproduction, 237-256, Courot, M.

(Hrsg.), Martinus Nijhoff Publishers, Boston Dordrecht Lancaster

CORTEEL, J.M., G. de MONTIGNY, C. CHAPELAIN, G. BARIL,

B. LEBOEUF, Y. BERSON et D. BERNELAS (1984 b):

Nouvelles conditions d'insémination chez la chèvre: allègement des conditions de mise en place de la semence et augmentation du coefficient de diffusion des males par I.A.

9èmes Journées Rech. ovine et caprine, Paris, 173-181

COULTER, G.H. and R.H. FOOTE (1977):

Effects of package, extender, and light on stored frozen bull spermatozoa

J. Dairy Sci. 60, 1428-1432

COURTENS, J.L. and M. PAQUIGNON (1985):

Ultrastructure of fresh, frozen, and frozen-thawed spermatozoa of the boar

Proc. 1st Int. Congr. Deep Freez. Boar Semen, Uppsala, 61-87

DARIN-BENNETT, A., A. POULOS and I.G. WHITE (1973):

The effect of cold shock and freeze-thawing on release of phospholipids by ram, bull and boar spermatozoa

Aust. J. biol. Sci. 26, 1409-1420

DAUZIER, L., C. THIBAUT et S. WINTENBERGER (1954):

Conservation du sperme de béliet après dilution et maintien de son pouvoir fécondant

Annls Endocr. 15, 341-350

DAVIS, J.S., R.W. BRATTON and R.H. FOOTE (1963):

Livability of bovine spermatozoa at 5° C in tris-buffered and citrate-buffered yolk-glycerol extenders

J. Dairy Sci. 46, 57-60

DAVIS, I.S., R.W. BRATTON and R.H. FOOTE (1963):

Livability of bovine spermatozoa at 5, - 25 and - 85° C
in Tris-buffered and citrate-buffered yolk-glycerol extenders
J. Dairy Sci. 46, 333-336

DEMICK, D.S., J.L. VOSS and B.W. PICKETT (1976):

Effect of cooling, storage, glycerolisation and spermatozoa
numbers on equine fertility
J. Anim. Sci. 43, 633-637

DREVIUS, L.-O. and H. ERIKSSON (1966):

Osmotic swelling of mammalian spermatozoa
Exp. Cell Res. 42, 136-156

DÜZGÜNES, N. (1984):

Dehydration and phase transitions in membrane fusion
Cryobiology 21, 695-696

DZIUK, P.J., J.M. LEWIS, E.F. GRAHAM and R.H. MOYER (1972):

Comparison between natural service and artificial insemination
with fresh or frozen sperm at an appointed time in the ewe
J. Anim. Sci. 35, 572-575

EIBL, K. (1959):

Lehrbuch der Rinderbesamung
Parey, Hamburg

EMMENS, C.W. and A.W. BLACKSHAW (1950):

The low temperature storage of ram, bull and rabbit spermatozoa
Aust. vet. J. 26, 226-228

ENTWISTLE, K.W. and I.C.A. MARTIN (1972 a):

Effects of composition of diluent, method of addition of
glycerol, freezing rate, and storage temperature on the
revival of ram spermatozoa after deep-freezing
Aust. J. biol. Sci. 25, 379-386

ENTWISTLE, K.W. and I.C.A. MARTIN (1972 b):

Effects of the number of spermatozoa and of volume of diluted semen on fertility in the ewe

Aust. J. agric. Res. 23, 467-472

ERICKSON, W.E. and E.F. GRAHAM (1959):

Factors affecting the fertility of frozen bovine spermatozoa

J. Dairy Sci. 42, 520-528

FAHY, G.M. (1981):

Simplified calculation of cell water content during freezing and thawing in nonideal solutions of cryoprotective agents and its possible application to the study of "solution effects" injury

Cryobiology 18, 473-482

FAHY, G.M., (1986):

The relevance of cryoprotectant "toxicity" to cryobiology

Cryobiology 23, 1-13

FISCHER, A. und L. THIER (1963):

Ein Konservierungsverfahren für Rindersamen nach französischem Vorbild

Tierärztl. Umsch. 18, 473-481

FISER, P.S. (1979):

New extenders for freezing ram semen

Cryobiology 16, 614-615

FISER, P.S., L. AINSWORTH and R.W. FAIRFULL (1982):

Cryosurvival of ram spermatozoa in hypertonic and isotonic diluents

Can. J. Anim. Sci. 62, 425-428

FISER, P.S., L. AINSWORTH and G.A. LANGFORD (1981):

Effect of osmolality of skim-milk diluents and thawing rate on cryosurvival of ram spermatozoa

Cryobiology 18, 399-403

FISER, P.S. and R.W. FAIRFULL (1983):

Effects of changes in photoperiod on freezability of ram spermatozoa

Cryobiology 20, 684-689

FISER, P.S. and T.R. BATRA (1984):

Effect of equilibration time at 5° C and photoperiod on survival of ram spermatozoa frozen in straws

Can. J. Anim. Sci. 64, 777-780

FISER, P.S. and R.W. FAIRFULL (1986 a):

Combined effects of glycerol concentration, cooling velocity, and osmolality of skim milk diluents on cryopreservation of ram spermatozoa

Theriogenology 25, 473-484

FISER, P.S. and R.W. FAIRFULL (1986 b):

The effects of rapid cooling (cold shock) of ram semen, photoperiod, and egg yolk in diluents on the survival of spermatozoa before and after freezing

Cryobiology 23, 518-524

FISER, P.S., R.W. FAIRFULL and G.J. MARCUS (1986):

The effect of thawing velocity on survival and acrosomal integrity of ram spermatozoa frozen at optimal and suboptimal rates in straws

Cryobiology 23, 141-149

FIRST, N.L., H.A. HENNEMANN, W.T. MAGEE and J.A. WILLIAMS (1961):

The frozen storage of ram semen

J. Anim. Sci. 20, 74-78

FLIPSE, R.J., S. PATTON and J.O. ALMQUIST (1954):

Diluents for bovine semen. III. Effect of lactenin and of lactoperoxidase upon spermatozoan livability

J. Dairy Sci. 37, 1205

FIRST, N.L., A. SEVINGE and H.A. HENNEMAN (1961):

Fertility of frozen and unfrozen ram semen

J. Anim. Sci. 20, 79-84

FOOTE, R.H. (1964):

Influence of pH on survival and fertility of bull sperm

J. Dairy Sci. 47, 807-811

FOOTE, R.H. (1967):

Factors prolonging survival of unfrozen bovine spermatozoa

J. Dairy Sci. 50, 1338-1340

FOOTE, R.H. (1970 a):

Fertility of bull semen at high extension rates in Tris-buffered extenders

J. Dairy Sci. 53, 1475-1477

FOOTE, R.H. (1970 b):

Influence of extender, extension rate and glycerolating technique on fertility of frozen bull semen

J. Dairy Sci. 53, 1478-1482

FOOTE, R.H. and E.P. LEONHARD (1964):

The influence of pH, osmotic pressure, glycine, and glycerol on the survival of dog sperm in buffered-yolk extenders

Cornell Vet. 54, 78-89

FOUGNER, J.A. (1976):

Uterine insemination with frozen semen in goats

8th Int. Congr. Anim. Reprod. A.I., Krakau, Vol. IV, 987-990

FOUGNER, J.A. (1979):

Die intrauterine Besamung der Ziege mit tiefgefrorenem Sperma.

Drei Jahre praktischer Einsatz

Zuchthyg. 14, 104-110

FOULKES, J.A. (1977):

The separation of lipoproteins from egg yolk and their effect on the motility and integrity of bovine spermatozoa
J. Reprod. Fert. 49, 277-284

FOULKES, J.A., R. GOODEY and D.L. STEWART (1977):

Fertility of bovine semen frozen in four diluents for use in artificial insemination
Vet. Rec. 101, 171

FOULKES, J.A. and D.L. STEWART (1977):

Fertility of dairy cattle after artificial insemination with semen frozen in a lipoprotein diluent
J. Reprod. Fert. 51, 175-177

FOULKES, J.A., D. SWEASEY and R.G. GOODEY (1980):

Fertility of bull spermatozoa in egg-yolk diluents of varied lipid fatty acid composition
J. Reprod. Fert. 60, 165-169

FRASER, A.F. (1968):

Progress in the artificial insemination of sheep with frozen semen
6th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Paris, Vol. II, 1033-1035

FUKUI, Y. and E.M. ROBERTS (1976):

Studies of non-surgical intra-uterine insemination of frozen pelleted semen in the ewe
8th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Krakau, Vol. III, 991-993

FUKUI, Y. and E.M. ROBERTS (1977):

Fertility of ewes treated with prostaglandin F 2 alpha and artificially inseminated at predetermined intervals thereafter
Aust. J. agric. Res. 28, 891-897

FUKUHARA, R. and Y. NISHIKAWA (1973):

Effects of pH, sperm concentration, washing and substrate concentration on respiration and motility of goat spermatozoa
Jap. J. Zootechn. Sci. 44, 266-270

GEBAUER, M.R., B.W. PICKETT, R.J. KOMAREK and W.S. GAUNYA (1970):
Motility of bovine spermatozoa extended in "defined" diluents
J. Dairy Sci. 53, 817-823

GLOVER, T.E. and P.F. WATSON (1985):
The effect of buffer osmolality on the survival of cat
(felis catus) spermatozoa at 5° C
Theriogenology 24, 449-456

GÖTZE, R. (1949):
Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere
Schaper, Hannover

GOFFAUX, M. et J.M. CORTEEL (1967):
Essais de congélation de sperme de bouc
Annls Zootech. 16, 213-216

GOOD, N.E., G.D. WINGET, W. WINTER, T.N. CONOLLY, S. IZAWA
and R.M.M. SINGH (1966):
Hydrogen ion buffers for biological research
Biochemistry 5, 467-477

GRAHAM, E.F., B.G. CRABO and K.J. BROWN (1972):
Effect of some zwitter ion buffers on the freezing and storage
of spermatozoa. I. Bull
J. Dairy Sci. 55, 372-378

GRAHAM, J.K. and R.H. FOOTE (1987):
Effect of several lipids, fatty acyl chain length, and degree of
unsaturation on the motility of bull spermatozoa after cold shock
and freezing
Cryobiology 24, 42-52

GRÖTTE, O. (1984):
Artificial insemination in goats and sheep in Norway
Persönliche Mitteilung

GRÜTTEMEIER, H.G. (1969):

Samenübertragung bei Ziegen. XIII. Beitrag. Zehn Jahre Ziegenbesamung im Saarland

Vet. Med. Diss., Hannover

GÜNZEL, A.-R., J. PEREIRA-NEVES, J.A. FOUNGER, H. BADER
and H. SCHMIDT (1980):

Deep freezing of ram semen: The influence of different
cryobiological factors

9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. V, 404-407

GUSTAFSSON, B., S. EDQUIST, S. EINARSSON and F. LINGE (1975):

The fertility of deep-frozen ram semen supplemented with
PGF 2 alpha

Acta Vet. Scand. 16, 468-470

HÅRD, M.G. and M.Ch. HÅRD (1984):

Prolonged thawing time for bovine semen in 0,25 ml french straws
10th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Urbana-Champaign,

Vol. II, 196

HAFEZ, E.S.E. (1980):

Transport and survival of gametes

in: Reproduction in farm animals, 203-225, Hafez, E.S.E.

(Hrsg.), Lea and Febiger, Philadelphia

HAHN, R., B. CASSOU und K. EIBL (1969):

Vergleichende Untersuchungen über die Einfriertechnik des Bullen-
samens mit Hilfe Paillette bzw. Ampulle

Dtsch. tierärztl. Wschr. 76, 346-350

HAMPEL, J. (1951):

Versuche zur Verdünnung des Ziegenspermas

Vet. Med. Diss., Hannover

HESS, R., W. SCHÄFER und W. BAUM (1967):

Tiefkühlkonservierung von Schafbocksperma unter Verwendung
von flüssigem Stickstoff bei - 196° C

Fortpfl. Besam. Aufzucht Haustiere 3, 167-176

HOLMSTRÖM, B.G. (1985):

Use of deep-frozen boar semen in Finland

Proc. 1st Int. Congr. Deep Freez. Boar Semen, Uppsala, 286-289

HUHOLD, K. (1973):

Vierjährige Erfahrungen mit der künstlichen Besamung der Schafe in einer Herde

Mh. Vet.-Med. 28, 387-391

HUMKE, R. (1959):

Samenübertragung bei Ziegen. X. Beitrag. Samenkonservierungs- und Besamungsversuche unter besonderer Berücksichtigung des Samentiefkühlverfahrens (-79°C)

Vet. Med. Diss., Hannover

IRITANI, A. (1980):

Problems of freezing spermatozoa of different species

9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. I, 115-132

JEYENDRAN, R.S. and E.F. GRAHAM (1980):

An evaluation of cryoprotective compounds on bovine spermatozoa
Cryobiology 17, 458-464

JONES, R.C. (1965):

The use of dimethyl sulphoxide, glycerol, and reconstituted skim milk for the preservation of ram spermatozoa. II. The influence of diluent composition and processing time during freezing to -79°C with dimethyl sulphoxide or glycerol or both compounds

Aust. J. biol. Sci. 18, 887-900

JONES, R.C. (1969 a):

Studies on the suitability of preparations of ewe and cow milk for storing ram spermatozoa at 37°C , 5°C , and -79°C

Aust. J. biol. Sci. 22, 983-994

JONES, R.C. (1969 b):

Influence of diluents and processing times after ejaculation on the survival of deep-frozen ram spermatozoa

Aust. J. biol. Sci. 22, 995-1004

JONES, R.C. and R.H. FOOTE (1972 a):

Effect of osmolality and phosphate, Tris, TES, MES and HEPES hydrogen ion buffers on the motility of bull spermatozoa stored at 37 or 5° C

Aust. J. biol. Sci. 25, 1047-1055

JONES, R.C. and R.H. FOOTE (1972 b):

Non-dialysable skim milk in diluents for ram and bull semen

J. Dairy Sci. 55, 856-861

JONES, R. and T. MANN (1977 a):

Toxicity of exogenous fatty acid peroxides towards spermatozoa

J. Reprod. Fert. 50, 255-260

JONES, R. and T. MANN (1977 b):

Damage to ram spermatozoa by peroxidation of endogenous phospholipids

J. Reprod. Fert. 50, 261-268

JONES, R.C. and I.C.A. MARTIN (1965):

Deep-freezing ram spermatozoa: The effects of milk, yolk-citrate and synthetic diluents containing sugar

J. Reprod. Fert. 10, 413-423

JONES, R.C. and I.C.A. MARTIN (1973):

The effects of dilution, egg yolk and cooling to 5° C on the ultrastructure of ram spermatozoa

J. Reprod. Fert. 35, 311-320

JONES, R.C., I.C.A. MARTIN and K.R. LAPWOOD (1969):

Studies on the artificial insemination of sheep: the effects on fertility of diluting ram semen, stage of oestrus of the ewe at insemination, and injection of synthetic oxytocin

Aust. J. agric. Res. 20, 141-150

KAMPSCHMIDT, R.F., D.T. MAYER and H.A. HERMAN (1953):
Lipid and lipoprotein constituents of egg yolk in the
resistance and storage of bull spermatozoa
J. Dairy Sci. 36, 733-742

KARLSON, P. (1974):
Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissen-
schaftler
Thieme, Stuttgart

KHARCHÉ, K.G., G.R. PANGAWKAR and V.P. MITTAL (1976):
Effect of certain dilutors on the morphology of ram spermatozoa
on preservation at 5° C
Indian Vet. J. 53, 694-698

KOBER, C. (1985):
Vergleichende Untersuchungen von Verdünnern zur Spermakonser-
vierung bei Schwein, Pferd und Hund unter besonderer Berück-
sichtigung physikalischer Eigenschaften
Vet. Med. Diss., München

KOLK, J. (1985):
Ziegenbesamung - problemlose Tiefgefrierung und praxisgerech-
te Besamung
Prakt. Tierarzt 66, 490-492

KOUTSOURIS, C.D. und H. VAUPEL (1973):
Tiefgefrierung von Schafbocksperma in Pelletform mit unter-
schiedlichen Abkühlverfahren vor dem Einfrieren
Zuchthyg. 8, 163-170

KUPFERSCHMIED, H. (1971):
Vergleich zwischen einem Zitrat- und einem Trisverdünner in
der Rinderbesamung
Zuchthyg. 6, 123-126

KUPFERSCHMIED, H. und E. MUTHER (1977):

Erfahrungen mit der künstlichen Besamung und der Brunst-synchronisation bei der Ziege

Schweiz. Arch. Tierheilk. 119, 405-413

LANGFORD, G.A. (1984):

Reproductive performance of confined ewe lambs bred by artificial insemination

10th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Urbana-Champaign,

Vol. III, 371

LANGFORD, G.A. and G.J. MARCUS (1982):

Influence of sperm number and seminal plasma on fertility of progestagen-treated sheep in confinement

J. Reprod. Fert. 65, 325-329

LANGFORD, G.A., G.J. MARCUS, A.J. HACKETT, L. AINSWORTH,

M.S. WOLYNETZ and H.F. PETERS (1979):

A comparison of fresh and frozen semen in the insemination of confined sheep

Can. J. Anim. Sci. 59, 685-691

LANZ, R.N., B.W. PICKETT and R.J. KOMAREK (1965):

Effect of lipid additives on pre- and post-freeze survival of bovine spermatozoa

J. Dairy Sci. 48, 1692-1697

LAPWOOD, K.R. and I.C.A. MARTIN (1966):

The use of monosaccharides, disaccharides, and trisaccharides in synthetic diluents for the storage of ram spermatozoa at 37° C and 5° C

Aust. J. biol. Sci. 19, 655-671

LAPWOOD, K.R., I.C.A. MARTIN and K.W. ENTWISTLE (1972):

The fertility of Merino ewes artificially inseminated with semen diluted in solutions based on skim milk, glucose, or ribose

Aust. J. agric. Res. 23, 457-466

LARDY, H.A. and P.H. PHILLIPS (1943):

Effect of pH and certain electrolytes on the metabolism
of ejaculated spermatozoa

Am. J. Physiol. 138, 741-746

LEHNINGER, L.A. (1985):

Biochemie

VCH Verlagsgemeinschaft mbH, Weinheim

LIEB, J. und J.E.B. OSTROWSKI (1960):

Beitrag zur Samenübertragung bei Ziegen bei Anwendung des Tief-
kühlverfahrens (- 79° C)

Dtsch. tierärztl. Wschr. 62, 127-129

LIGHTFOOT, R.J. and S. SALAMON (1970):

Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. II.
The effects of method of insemination on fertilization and
embryonic mortality

J. Reprod. Fert. 22, 399-408

LILLO, A. (1984):

Lambing rates after single inseminations of ewes with liquid
or deep-frozen semen

10th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Urbana-Champaign,
Vol. III, 373

LINDAHL, P.E. and L.O. DREVIUS (1964):

Observations on bull spermatozoa in a hypotonic medium related
to sperm mobility mechanisms

Exp. Cell Res. 36, 632-646

LOOMIS, P.R., R.P. AMANN, E.L. SQUIRES and B.W. PICKETT (1983):

Fertility of unfrozen and frozen stallion spermatozoa
extended in EDTA-lactose-egg yolk and packaged in straws

J. Anim. Sci. 56, 687-693

LOVELOCK, J.E. and C. POLGE, (1954):

The immobilization of spermatozoa by freezing and thawing
and the protective action of glycerol

Biochem. J. 58, 618-622

LUNCA, N. (1968):

Quelques aspects concernant la congélation du sperme de bœlier

6th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Paris, Vol. II, 1615-1618

LYNGSET, O., J. AAMDAL and W. VELLE (1965):

Artificial insemination in the goat with deep frozen and
liquid semen after hormonal synchronisation of oestrus

Nord. VetMed. 17, 178-181

MAC DONALD, B.J. and J.A. FOULKES (1981):

A spectrofluorometric investigation, using 1-anilino-
naphthalene-8-sulphonate, of the interaction between washed
bovine spermatozoa and seminal plasma or egg yolk lipoprotein

J. Reprod. Fert. 63, 407-414

MAHI, C.A. and R. YANAGIMACHI (1973):

The effects of temperature, osmolality and hydrogen ion
concentration on the activation and acrosome reaction of
golden hamster spermatozoa

J. Reprod. Fert. 35, 55-66

MANN, Th. (1964):

The biochemistry of semen and of the male reproductive tract
Methuen and Co Ltd., London

MANN, Th. and C. LUTWAK-MANN (1981):

Male reproductive function and semen
Springer, Berlin Heidelberg New York

MARTIN, I.C.A. (1963):

Revival of bull spermatozoa after deep-freezing to -79°C
following equilibration in diluents of various tonicities

J. Reprod. Fert. 6, 433-439

MARTIN, I.C.A. (1965):

Effects of rate of cooling to 5° C, storage at 5° C, glycerol concentration, sodium chloride, fructose, and glycine on the revival of deep-frozen bull spermatozoa

J. Agric. Sci. 64, 425-432

MARTIN, I.C.A. (1966):

Diluents for the preservation of ram spermatozoa. I. Diluents used at 37° C and 5° C containing casein

Aust. J. biol. Sci. 19, 645-653

MARTIN, J.C., E. KLUG and A.-R. GÜNZEL (1979):

Centrifugation of stallion semen and its storage in large volume straws

J. Reprod. Fert., Suppl. 27, 47-51

MATHEW, J., C.K.S.V. RAJA and K.P. NAIR (1984):

Preservation of buck semen in Tris yolk diluent

Indian vet. J. 61, 964-968

MATTOS, R.C. (1982):

Untersuchungen über den Einfluß verschiedener kryobiologischer Faktoren auf die Qualität und Befruchtungsfähigkeit von tief-gefrorenem Schafesperma

Vet. Med. Diss., Hannover

MAXWELL, W.M.C. (1986 a):

Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at synchronised oestrus. 1. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility

Anim. Reprod. Sci. 10, 301-308

MAXWELL, W.M.C. (1986 b):

Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronised oestrus. 2. Effect of dose of spermatozoa and site of intrauterine insemination on fertility

Anim. Reprod. Sci. 10, 309-316

MAXWELL, W.M.C., R.M. CURNOCK, D.N. LOGUE and H.C.B. REED
(1980):

Fertility of ewes following artificial insemination with
semen frozen in pellets or straws, a preliminary report
Theriogenology 14, 83-89

MC GANN, L.E. (1978):

Differing actions of penetrating and nonpenetrating cryo-
protective agents
Cryobiology 15, 382-390

MEMON, M.A. and R.S. OTT (1981):

Methods of semen preservation and artificial insemination
in sheep and goats
World Rev. Anim. Prod. 17, 19-25

MEMON, M.A., K.N. BRETZLAFF and R.S. OTT (1985):

Effect of washing on motility and acrosome morphology on
frozen-thawed goat spermatozoa
Am. J. Vet. Res. 46, 473-475

MENGER, H. (1983):

Schafbesamung
VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin

MENGER, H. und G. BRÜCKNER (1978):

Zum Einfluß der Temperatur auf das In-vitro- und In-vivo-
Ergebnis der Konservierung und Inkubation von Schafbock-
sperma nach Flüssigkonservierung
Arch. Tierzucht 21, 239-246

MENGER, H., C. RUDOLPH und G. BRÜCKNER (1986):

Die Bedeutung des pH-Wertes für die Beurteilung der Spermien-
qualität und des Brunstverlaufs sowie für die Erreichung guter
Befruchtungsergebnisse. 3. Mitteilung: Verhalten des pH-Wertes
im originären und verdünnten Schafbocksperma und seine Bezie-
hung zur Trächtigkeitsrate
Arch. Exp. Vet. Med. 40, 933-938

MERYMAN, H.T. (1971):

Osmotic stress as a mechanism of freezing injury

Cryobiology 8, 489-500

MERYMAN, H.T., R.J. WILLIAMS and M.S.J. DOUGLAS (1977):

Freezing injury from "solution effects" and its prevention
by natural or artificial cryoprotection

Cryobiology 14, 287-302

MIRONESCU, S. and T.M. SEED (1977):

Hyperosmotic injury in mammalian cells. II. Surface alterations
of CHO cells in unprotected and DMSO-treated cultures

Cryobiology 14, 575-591

MUDRA, K. und W. BUSCH (1982):

Künstliche Besamung beim Schwein

in: Künstliche Besamung bei Nutztieren, 364-427, Busch, W.,
K. Löhle und W. Peter (Hrsg.), Enke, Stuttgart

MÜLLER, H., G. STERBA, G. BRÜCKNER, I. HOFMANN und J. LEHMANN
(1977):

Zur Genese von Plasmamembran-Veränderungen bei Schafbock-
spermien

Biol. Zbl. 96, 571-578

NAGASE, H. and E.F. GRAHAM (1964):

Pelleted semen: Comparison of different extenders and processes
on fertility of bovine spermatozoa

5th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Trient, Vol. IV, 387-391

NEUBERT, L. und H. MENDER (1981):

Probleme der Tieftemperaturkonservierung von Schafbock-
spermien. 1. Mitteilung: Der Einfluß verschiedener Kryo-
protektiva auf die Spermien

Arch. Exp. Vet. Med. 35, 51-56

NEUBERT, L., H. WENIG und H. MENDER (1982):

Probleme der Tiefgefrierkonservierung von Schafbockspermien.

2. Mitteilung: Der Einfluß des Bockes und der Taugeschwindigkeit auf die Trächtigkeitsrate sowie Untersuchungen zur Fertilitätsprognose

Arch. Exp. Vet. Med. 36, 323-331

NEVES, J.P. (1980):

Untersuchungen zur Samenübertragung beim Schaf unter besonderer Berücksichtigung der Spermatiefgefrierkonservierung

Vet. Med. Diss., Hannover

NICOLAI, E.E. (1957):

Samenübertragung bei Ziegen. IX. Beitrag. Verdünnungs- und

Besamungsversuche (Riedel de Haën-Verdünnung D +) sowie

Fütterungsversuche

Vet. Med. Diss., Hannover

NORMAN, C., C.E. JOHNSON, I.D. PORTERFIELD and R.S. DUNBAR Jr. (1958):

Effect of pH on the life-span and metabolism of bovine sperm kept at room temperatures

J. Dairy Sci. 41, 1803-1812

NUNES, J.F., J.-M. CORTEEL, Y. COMBARNOUS et G. BARIL (1982):

Rôle du plasma séminal dans la survie in vitro des spermatozoïdes de bouc

Reprod. Nutr. Dév. 22, 611-620

OBANDO, H. and E. LUCENA (1984):

Comparative study of two extenders: glycine vs. TES-TRIS in cryopreserving human semen

10th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Urbana- Champaign,

Vol. II, 203

O'DELL, W.T. and J.O. ALQUIST (1957):

Freezing bovine semen. I. Techniques for freezing bovine spermatozoa in milk diluents

J. Dairy Sci. 40, 1534-1541

ÖZKOCA, A. (1980):

Lambing results obtained with diluted and stored ram semen
9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. V, 181-184

OLAFSSON, T. (1980):

Insemination of sheep with frozen semen
Zuchthyg. 15, 50-59

OLDS, D. and N.L. VAN DEMARK (1957):

Composition of luminal fluids in bovine female genitalia
Fert. Steril. 8, 345-354

OSTASHKO, F.J., M.P. PAVLENKO and L.N. PAVLENKO (1984):

Antishock effect of yolk and its components in cooling bull,
ram or boar spermia
10th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Urbana-Champaign,
Vol. II, 209

PACE, M.M. and E.F. GRAHAM (1974):

Components in egg yolk which protect bovine spermatozoa during
freezing
J. Anim. Sci. 39, 1144-1149

PAGGI (1971):

Samenübertragung bei Ziegen. XIV. Beitrag. Versuche zur Tief-
gefrierung von Ziegenbocksperma
Vet. Med. Diss., Hannover

PAQUIGNON, M. (1985):

Freezing and thawing extenders for boar spermatozoa
Proc. 1st Int. Congr. Deep Freez. Boar Semen, Uppsala, 129-145

PAREEK, P.K., P.N. ROYCHOUDHURY and H.C. GOWDA (1975):

Extracellular release of glutamic-oxaloacetic transaminase and
glutamic-pyruvic transaminase from ram spermatozoa
Zbl. Vet. Med. A, 22, 440-442

PARRISH, J.J. and R.H. FOOTE (1980):

Organic buffer for freezing bovine spermatozoa
J. Anim. Sci. 51, Suppl. 1, 314-315

PATT, J.A. and J. NATH (1969):

Effect of diluents, equilibration time and freezing rates
on the storage of ram semen
Cryobiology 5, 385-392

PAUFLER, S. (1969):

Methodik und Ergebnisse bei der Anwendung von Tiefgefriersperma
in Plastikaufschraubampullen ohne vorheriges Auftauen (Göttin-
ger Methode)
Dtsch. tierärztl. Wschr. 76, 117-120

PÉREZ, J.V. (1985):

Die Bedeutung verschiedener Samenvorbehandlungen für die Tief-
gefrierkonservierung von Ziegenbocksperma
Vet. Med. Diss., Hannover

PETERS, J. (1953 a):

Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit des
Eidottermilchverdünners
Dtsch. tierärztl. Wschr. 60, Beilage Fortpfl. u. Besam. d.
Haust. 2, 14-15

PETERS, J. (1953 b):

Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit des
Eidottermilchverdünners
Dtsch. tierärztl. Wschr. 60, Beilage Fortpfl. u. Besam. d.
Haust. 3, 17-20

PETRIDES, P.E. (1975):

Wasser und Bioelemente
in: Physiologische Chemie, 4-38, Harper, H.A., G. Löffler,
P.E. Petrides und L. Weiss (Hrsg.), Springer-Verlag,
Heidelberg

PETRUZZI, V., S. TARANTINI and P.N. ROYCHOUDHURY (1976):
Effect of different semen diluents on survival of ram
spermatozoa at 5° C

Zbl. Vet. Med. A, 23, 556-561

PHILLIPS, P.H. (1939):

Preservation of bull semen

J. Biol. Chem. 130, 415

PHILLIPS, P.H. and H.A. LARDY (1940):

A yolk-buffer pabulum for the preservation of bull semen

J. Dairy Sci. 23, 399-404

PICKETT, B.W. and W.E. BERNDTSON (1974):

Preservation of bovine spermatozoa by freezing in straws:
a review

J. Dairy Sci. 57, 1287-1301

PROVINCE, C.A., R.P. AMANN, B.W. PICKETT and E.L. SQUIRES (1984):
Extenders for preservation of canine and equine spermatozoa
at 5° C

Theriogenology 22, 409-415

PURSEL, V.G., L.A. JOHNSON and L.L. SCHULMAN (1972):

Interaction of extender composition and incubation period
on cold shock susceptibility of boar spermatozoa

J. Anim. Sci. 35, 580-584

PURSEL, V.G. and C.S. PARK (1985):

Freezing and thawing procedures for boar spermatozoa

Proc. 1st Int. Congr. Deep Freez. Boar Semen, Uppsala, 147-166

PURSEL, V.G., L.L. SCHULMANN and L.A. JOHNSON (1978):

Effect of orvus'es paste on acrosome morphology, motility
and fertilizing capacity of frozen thawed boar sperm

J. Anim. Sci. 47, 198-202

PURSLEY, G.R. and H.A. HERMAN (1950):

Some effects of hypertonic and hypotonic solutions on the livability and morphology of bovine spermatozoa

J. Dairy Sci. 33, 220-227

RAO, P.S., J.D. SIKES (1968):

Freezing-point depression and viability of bovine sperm during freezing and storage

Fertil. Steril. 19, 129-136

RAO, P.S., J.D. SIKES and C.P. MERILAN (1966):

Effect of freezing point depression in freezing and storage of bovine semen

J. Dairy Sci. 49, 726

RESENDE, J., K.F. WEITZE und D. KRAUSE (1983):

Problematik der Besamung mit Tiefgefriersperma bei der Ziege
Zuchthyg. 18, 105

RICKARD, H.E., T.M. LUDWICK, E.A. HESS and F. ELY (1957):

Activation of bovine spermatozoa by the use of sodium carbonate

J. Dairy Sci. 40, 203-208

RITAR, A.J. and S. SALAMON (1982):

Effects of seminal plasma and of its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat

Aust. J. biol. Sci. 35, 305-312

ROOS, B., H. BADER, J. PFEILSTICKER and H. MARRÉ (1974):

Untersuchungen zur Konfektionierung von Bullensperma in Minitüb-Röhrchen - Labor- und Feldversuche

Dtsch. tierärztl. Wschr. 24, 610-614

ROSENWINKEL, B. (1953):

Samenübertragung bei Ziegen. VI. Beitrag. Verdünnungs- und Besamungsversuche (Natrium-Citrat, Spermasol, Dilopten)

Vet. Med. Diss., Hannover

ROTHSCHILD, L. and H. BARNES (1954):

Osmotic pressure of bull semen diluents

Nature 173, 636-637

ROWE, A.W. (1966):

Biochemical aspects of cryoprotective agents in freezing
and thawing

Cryobiology 3, 12-18

ROY, A. (1957):

Egg-yolk coagulating enzyme in the semen and Cowper's gland
of the goat

Nature 179, 318-319

ROYCHOUDHURY, P.N. and BHAMBHANI (1977):

Pellet freezing of ram spermatozoa

Zbl. Vet. Med. A, 24, 696-700

ROYCHOUDHURY, P.N. and M.L. DUBAY (1977):

Survival of bull spermatozoa in ewe milk

Zbl. Vet. Med. A, 24, 591-596

ROYCHOUDHURY, P.N., H.C. GOWDA and P.K. PAREEK (1975):

Effect of different glycerol levels on the release of glutamic
oxaloacetic transaminase (GOT) from deep frozen ram spermatozoa
andrologia 7, 211-215

QUINN, P.J. and I.G. WHITE (1968):

The effect of pH, cations and protective agents on the suscepti-
bility of ram spermatozoa to cold shock

Exp. Cell. Res. 49, 31-39

QUINN, P.J. and I.G. WHITE (1969):

Osmotic shock of ram spermatozoa

J. Reprod. Fert. 18, 375-377

SALAMON, S. and R.J. LIGHTFOOT (1969):

Freezing ram spermatozoa by the pellet method. I. The effect of diluent composition on survival of spermatozoa

Aust. J. biol. Sci. 22, 1527-1546

SALAMON, S., W.M.C. MAXWELL, and J.H. FIRTH (1977):

Fertilizing capacity of ram spermatozoa stored at 5° C

Theriogenology 8, 200-201

SALAMON, S., W.M.C. MAXWELL and J.H. FIRTH (1979):

Fertility of ram semen after storage at 5° C

Anim. Reprod. Sci. 2, 373-385

SALAMON, S. und A.J. RITAR (1982):

Deep freezing of Angora goat semen: Effects of diluent composition and method and rate of dilution on survival of spermatozoa

Aust. J. biol. Sci. 35, 295-303

SALAMON, S. and T.J. ROBINSON (1962 a):

Studies on the artificial insemination of Merino sheep.

I. The effects of frequency and season of insemination,

age of the ewe, rams, and milk diluents on lambing performance

Aust. J. agric. Res. 13, 52-68

SALAMON, S. and T.J. ROBINSON (1962 b):

Studies on the artificial insemination of Merino sheep.

II. The effects of semen diluents and storage on lambing performance

Aust. J. agric. Res. 13, 271-281

SALAMON, S. and D. VISSER (1972):

Effect of composition of tris-based diluent and of thawing solution on survival of ram spermatozoa frozen by the pellet method

Aust. J. biol. Sci. 25, 605-618

SALAMON, S. (1968):

Deep freezing of ram semen: Recovery of spermatozoa after pelleting and comparison with other methods of freezing
Aust. J. biol. Sci. 21, 351-360

SALAMON, S. (1970):

The survival of ram spermatozoa following pellet freezing below - 79° C
Aust. J. biol. Sci. 23, 459-468

SALAMON, S. (1971):

Fertility of ram spermatozoa following pellet freezing on dry ice at - 79 and - 140° C
Aust. J. biol. Sci. 24, 183-185

SALAMON, S. (1977):

Fertility following deposition of equal numbers of frozen-thawed ram spermatozoa by single and double insemination
Aust. J. agric. Res. 28, 477-479

SALAMON, S. (1980):

Fertility of ram semen after long-term storage
9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. V, 420-421

SALAMON, S. and M.R. BRANDON (1971):

Effect of composition of the thawing solution on survival of ram spermatozoa frozen by the pellet method
Aust. J. biol. Sci. 24, 355-364

SALAMON, S. and R.J. LIGHTFOOT (1967 a):

Effect of cold shock, liquid storage, and pellet-freezing on successive ram ejaculates
Aust. J. agric. Res. 18, 959-972

SALAMON, S. and R.J. LIGHTFOOT (1967 b):

Fertilization and embryonic loss in sheep after insemination with deep frozen semen
Nature 216, 194-195

SALISBURY, G.W., H.K. FULLER and E.B. WILLETT (1941):
Preservation of bovine spermatozoa in yolk-citrate diluent
and field results from its use
J. Dairy Sci. 24, 905

SALISBURY, G.W., C.B. KNODT and R.W. BRATTON (1948):
The freezing point depression of bull semen and its relation
to the diluter problem
J. Anim. Sci. 7, 283-290

SALISBURY, G.W. and R.J. LODGE (1962):
Metabolism of spermatozoa
Adv. Enzymol. 24, 35-92

SALISBURY, G.W., N.L. VAN DEMARK and J.R. LODGE (1978):
Physiology of reproduction and artificial insemination of
cattle
Freeman and Company, San Francisco

SAMOUILIDIS, S. (1970):
Ein Beitrag zur Tiefkühlkonservierung von Schaf- und Ziegen-
bocksamen mit Hilfe des Pellet- bzw. Paillettenverfahrens
Vet. Med. Diss., München

SAMOUILIDIS, S. und R. HAHN (1972):
Ein Beitrag zur Tiefkühlkonservierung von Schaf- und Ziegen-
bocksamen mit Hilfe des Paillettenverfahrens
Zuchthyg. 7, 111-116

SAMOUILIDIS, S., R. HAHN, A. FOUKOS und P. TSAKALOF (1982):
Die Befruchtungsfähigkeit von elfjährigem Ziegenbocktiefkühl-
sperma
Zuchthyg. 17, 9-12

SANTISTEBAN, M.E., N.M.A. MORALES, N.A. HERNANDEZ y H. MEX (1980):
Empleo de la solución "tampon" citrato de sodio y glucosa en
la inseminación artificial en caprinos
9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. III, 604-607

SCHILLING, E., M. VENGUST and D. SMIDT (1984):
Prediction of the quality of boar spermatozoa after freezing
and long storage
10th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Urbana-Champaign,
Vol. II, 64

SCHINDLER, H. and D. AMIR (1961):
Longevity of ram sperm in various diluents and at different
dilution rates
J. agric. Sci. 56, 183-189

SCHLEICHER, J. und G. BRÜCKNER (1973):
Ultrastrukturelle Befunde an flüssigkonservierten Schafbock-
spermien bei Einsatz verschiedener Puffersubstanzen
Mh.Vet.-Med. 28, 391-395

SCHMIDT, D. (1968):
Versuche über die Gefrierkonservierung von Bullen-, Ziegenbock-
und Schafbocksperma in Pelletform
Fortpfl. Besam. Aufzucht Haustiere 4, 172-200

SCHMIDT, K., O. DIETZ und H. WEIB (1950):
Künstliche Besamung von Ziegen
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 6, 109-112

SCHRADER, R. (1976):
Untersuchungen zur Tiefgefrierung von Ebersamen in Kunststoff-
rohren
Vet. Med. Diss., Hannover

SCHRAMM, G.P. und K. LÖHLE (1976):
Einfluß der Kryoprotektiva Glyzerin, Dimethylsulfoxid und
Äthylenglykol sowie der Glyzerinadaptionszeit auf die In-
vitro-Qualität des Hahnenspermas vor und nach der Tiefgefrier-
konservierung
Arch. Tierz. 19, 295-305

SCHÜLKE, B. (1982):

Grundstruktur der Spermienzelle und Grundzüge der Biochemie
des Spermas

in: Künstliche Besamung bei Nutztieren, 159-184, Busch, W.,
K. Löhle und W. Peter (Hrsg.),
Enke, Stuttgart

SEVINÇ, A., N. TEKIN und E. SENER (1985):

Befruchtungsergebnisse nach Samenübertragung mit tiefgefrorenem
Schafbocksperma (Minitüb) unter Verwendung verschiedener Verdüner
Dtsch. tierärztl. Wschr. 92, 475-476

SHERMAN, J.K. (1964):

Low temperature research on spermatozoa and eggs
Cryobiology 1, 103-129

SIMMET, R. (1983):

Persönliche Mitteilung

SMITH, R.L., W.E. BERNDTSON, M.B. UNAL and B.W. PICKETT (1979):

Influence of percent egg yolk during cooling and freezing on
survival of bovine spermatozoa
J. Dairy Sci. 62, 1297-1303

SORVISTO, P. (1983):

Untersuchungen zum Feldeinsatz von Brunstsynchronisation
und Samenübertragung beim Merinofleischschaf
Vet. Med. Diss., Hannover

STEINBACH, J. and R.H. FOOTE (1964):

Post-thaw survival of bovine spermatozoa frozen by different
methods in buffered yolk and skim milk extenders
J. Dairy Sci. 47, 909-915

STEINBACH, J. and R.H. FOOTE (1967):

Osmotic pressure and pH effects on survival of frozen bovine
spermatozoa
J. Dairy Sci. 50, 205-213

SZILAGYI, J. und E. MÜLLER (1972):

Untersuchungen über die Einfrierbarkeit von Bullenejakulaten
Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 444-448

TASKER, J.B. (1980):

Fluids, electrolytes and acid-base balance
in: Clinical biochemistry of domestic animals, 401-446, Kaneko
(Hrsg.), Academic Press, New York

TASSERON, F., D. AMIR and H. SCHINDLER (1977):

Acrosome damage of ram spermatozoa during dilution, cooling
and freezing
J. Reprod. Fert. 51, 461-462

TEKIN, N. (1982):

Untersuchungen zur Samenübertragung beim Schaf mit tiefgefrorenem
Sperma: Einfluß verschiedener Verdünner auf Motilität, Kopfkappen-
integrität und Sephadex-Filtration von in Minitüb konfektionier-
tem Sperma
Vet. Med. Diss., Hannover

THACKER, D.L. and J.O. ALMQUIST (1953):

Diluters for bovine semen. I. Fertility and motility of
bovine spermatozoa in boiled milk
J. Dairy Sci. 36, 173

THACKER, D.L., R.J. FLIPSE and J.O. ALMQUIST (1954):

Diluters for bovine semen. II. Effect of milk proteins
upon spermatozoan livability
J. Dairy Sci. 37, 220

TISCHNER, M., M. NYTKO and W. BIELANSKI (1980):

The effect of osmotic pressure on the velocity of stallion
spermatozoa
9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. V, 343-346

TIWARI, S.B., A.K. SRIVASTAVA and K.L. SAHNI (1977):

Some metabolic changes in ram semen stored in the milk diluent
Indian Vet. J. 54, 111-115

UNAL, M.B., W.E. BERNDTSON and B.W. PICKETT (1978):

Influence of sugars with glycerol on post thaw motility of
bovine spermatozoa in straws

J. Dairy Sci. 61, 83-89

VAN DEMARK, N.L. and U.D. SHARMA (1957):

Preliminary fertility results from the preservation of bovine
semen at room temperatures

J. Dairy Sci. 40, 438

VAN DEN BERG, L. and D. ROSE (1959):

Effect of freezing on the pH and composition of sodium and
potassium phosphate solutions: the reciprocal system KH_2PO_4 -
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-H}_2\text{O}$

Archs. Biochem. Biophys. 81, 319-329

VAN DEN BERG, L. and F.S. SOLIMAN (1969):

Effect of glycerol and dimethyl sulfoxide on changes in com-
position and pH of buffer salt solutions during freezing
Cryobiology 6, 93-97

VELLE, W., J. AAMDAL and O. LYGSET (1964):

Hormonal synchronisation of oestrus in the goat in connection
with artificial insemination

Nord. VetMed. 16, 828-832

VISSER, D. and S. SALAMON (1973):

Fertility of ram spermatozoa frozen in a tris-based diluent
Aust. J. biol. Sci. 26, 513-516

VISSER, D. and S. SALAMON (1974):

Fertility following inseminations with frozen-thawed recon-
centrated and unconcentrated ram semen

Aust. J. biol. Sci. 27, 423-425

VIVANCO, W. y J. VALERA (1980):

Congelación de semen de ovinos con el diluyente tris utilizando diversos tipos de envase

9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. III, 389

VLACHOS, K. und P. TSAKALOF (1963):

Die künstliche Besamung von Ziegen mit Tiefkühlsperma

Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 76, 491-493

WAGNER, H. (1949):

Erfahrungen und Versuche in der Ziegenbesamung. 3. Beitrag
Vet. Med. Diss., Hannover

WALES, R.G., I.J. FARNIE and T.D. GLOVER (1984):

The use of formalin in the storage of ram semen

10th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Urbana-Champaign,
Vol. II, 194

WALES, R.G. and I.G. WHITE (1958):

The interaction of pH, tonicity and electrolyte concentration
on the motility of dog spermatozoa

J. Physiol. 141, 273-280

WASS, K., I. HEDEBRO-VELANDER and T. SWENSSON (1980):

Effects of different extenders and processing techniques on
the non-return rate of deep-frozen bull semen

9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. V, 366-370

WATSON, P.F. (1975):

The interaction of egg yolk and ram spermatozoa studied
with a fluorescent probe

J. Reprod. Fert. 42, 105-111

WATSON, P.F. (1979):

The preservation of semen in mammals

Oxford Reviews of Reproductive Biology 1, 283-370

WATSON, P.F. (1981):

The roles of lipid and protéin in the protection of ram spermatozoa at 5° C by egg yolk lipoprotein

J. Reprod. Fert. 62, 483-492

WATSON, P.F. and I.C.A. MARTIN (1973):

The response of ram spermatozoa to preparations of egg yolk in semen diluents during storage at 5 or -196° C

Aust. J. biol. Sci. 26, 927- 935

WATSON, P.F. and I.C.A. MARTIN (1975 a):

Effects of egg yolk, glycerol and the freezing rate on the viability and acrosomal structures of frozen ram spermatozoa

Aust. J. biol. Sci. 28, 153-159

WATSON, P.F. and I.C.A. MARTIN (1975 b):

The influence of some fractions of egg yolk on the survival of ram spermatozoa at 5° C

Aust. J. biol. Sci. 28, 145-152

WATSON, P.F. and I.C.A. MARTIN (1976 a):

Artificial insemination of sheep: the effect of semen diluents containing egg yolk on the fertility of ram semen

Theriogenology 6, 559-564

WATSON, P.F. and I.C.A. MARTIN (1976 b):

Artificial insemination of sheep: the fertility of semen extended in diluents containing egg yolk and inseminated soon after dilution or stored at 5° C for 24 or 48 hours

Theriogenology 6, 553-556

WEISS, K. (1952):

Spermaverdünnung mit Milch

Wien. tierärztl. Mschr. 39, 668-672

WEITZE, K.F. (1977):

Gefrierschädigung und Gefrierschutz im Rahmen der Tiefgefrierkonservierung lebenden Materials unter besonderer Berücksichtigung der Säugersamenzelle

Dtsch. tierärztl. Wschr. 84, 402-406, 441-446, 481-484

WESTENDORF, P., L. RICHTER und H. TREU (1975):

Zur Tiefgefrierung von Ebersperma: Labor- und Besamungsergebnisse mit dem Hülzenberger Pailletten-Verfahren

Dtsch. tierärztl. Wschr. 82, 261-267

WETTKE, K. (1964):

Bericht über Versuche mit der Besamung von Ziegen

Tierärztl. Umsch. 19, 465-469

WHITE, I.G., P. CHOW and P.J. QUINN (1980):

Role of phospholipids in protecting spermatozoa from cold shock

9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. V, 371-374

WIGGIN, H.B. and J.O. ALMQUIST (1975):

Combinations of glycerol percent, glycerol equilibration time and thawing rate upon freezability of bull spermatozoa in plastic straws

J. Dairy Sci. 58, 416-418

WILMUT, I. and C. POLGE (1977):

The low temperature preservation of boar spermatozoa. I. Motility and morphology of boar spermatozoa frozen and thawed in the presence of permeating protective agents.

Cryobiology 14, 471-478

YASSEN, A.M. and R.H. FOOTE (1967 a):

Freezability of bull semen in centrifuged or dialyzed and reconstituted buffered egg yolk extenders

J. Dairy Sci. 50, 1481-1485

YASSEN, A.M. and R.H. FOOTE (1967 b):

Freezability of bovine spermatozoa in tris-buffered yolk extenders containing different levels of tris, sodium, potassium and calcium ions

J. Dairy Sci. 50, 887-892

ZARAZÚA, M.V., W.E. BERNDTSON and B.W. PICKETT (1977):

Influence of seminal dilution ratios and level of egg yolk during cooling and freezing of bovine spermatozoa in straws

J. Anim. Sci. 45, 1368-1373

ZELFEL, S. und M. KAUTZ (1965):

Versuche zur Tiefkühlkonservierung von Schafbockspersma

Fortpfl. Besam. Aufzucht Haustiere 2, 167-178

ZLATAREV, S. (1980 a):

Ewe artificial insemination with mini straw stored semen at 0 - 4° C

9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. V, 412-415

ZLATAREV, S. (1980 b):

Studies on the biological properties of ram spermatozoa stored in straws at 0 - 4° C

9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid, Vol. V, 416-419

Herrn Professor Dr. W. Leidl möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und besonders für die jederzeit gewährte und weit über den Rahmen dieser Arbeit hinausgehende Unterstützung recht herzlich danken.

Allen Mitarbeitern des Lehrstuhls, insbesondere aber Frau R. Haitchi sowie Herrn Dr. J. Braun und Herrn Dr. P. Riemke, sei für ihre wertvollen technischen Ratschläge und fachlichen Anregungen gedankt.

Ferner gilt mein besonderer Dank Frau C. Bouabid und Fräulein G. Schnell für die unermüdliche Mithilfe beim Schreiben der Manuskripte.

LEBENS LAUF

Am 11. 10. 1956 wurde ich, Christof Johannes Maria Mytzka, als erstes und einziges Kind des Postbeamten Hans-Joachim Mytzka und der Hausfrau Dorothea Mytzka, geb. Schreier, in Eggenfelden/Niederbayern geboren.

Von 1963 bis 1967 besuchte ich die Volksschule und im Anschluß daran bis 1976 das Karl-von-Closen-Gymnasium in Eggenfelden, wo ich im Juni 1976 die Reifeprüfung ablegte.

Den Grundwehrdienst leistete ich von Juli 1976 bis September 1977 bei der 1. Gebirgsdivision in den Standorten Bad Reichenhall und Pocking.

Im Wintersemester 1977 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, das ich im Mai 1983 mit der Tierärztlichen Prüfung beendete.

Am 01. 12. 1983 begann ich mit vorliegender Arbeit. Nach mehreren Anstellungen als teilzeitbeschäftigte und hauptberufliche wissenschaftliche Hilfskraft an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität in München bin ich seit dem 01. 01. 1987 an oben genannter Klinik als vollbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft tätig.

